

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, CITOGENÉTICA E
SENSIBILIDADE A HERBICIDAS EM TRÊS POPULAÇÕES
DE *Rottboellia cochinchinensis* EM CANA-DE-AÇÚCAR NO
ESTADO DE SÃO PAULO**

Ana Regina Schiavetto
Engenheira agrônoma

2015

Lombada do dorso

**T
E
S
E
/
S
C
H
I
A
V
E
T
T
O**

**R.
A.**

**2
0
1
5**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, CITOGENÉTICA E
SENSIBILIDADE A HERBICIDAS EM TRÊS POPULAÇÕES
DE *Rottboellia cochinchinensis* EM CANA-DE-AÇÚCAR NO
ESTADO DE SÃO PAULO**

Ana Regina Schiavetto

Orientador: Prof. Dr. Dilermando Perecin

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Mathias Azania

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas).

2015

S329c Schiavetto, Ana Regina
Caracterização molecular, citogenética e sensibilidade a herbicidas em três populações de *Rottboellia cochinchinensis* em cana-de-açúcar no Estado de São Paulo. / Ana Regina Schiavetto. – – Jaboticabal, 2015
vi, 87 p.; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015
Orientador: Dilermando Perecin
Coorientador: Carlos Alberto Mathias Azania
Banca examinadora: Janete Aparecida Desiderio, Robinson Luiz de Campos Machado Pitelli, Marcos Antonio Kuva, Paula Macedo Nobile

Bibliografia

1. AFLP. 2. Planta daninha. 3. *Saccharum* spp.. 4. Variabilidade genética I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.52:632.51

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



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

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, CITOGENÉTICA E SENSIBILIDADE A HERBICIDAS EM TRÊS POPULAÇÕES DE *Kottboëllia cochinchinensis* EM CANA-DE-AÇÚCAR NO ESTADO DE SÃO PAULO

AUTORA: ANA REGINA SCHIAVETTO

ORIENTADOR: Prof. Dr. DILERMANDO PERECIN

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. CARLOS ALBERTO MATHIAS AZANIA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM AGRONOMIA (GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS) , pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. DILERMANDO PERECIN
Departamento de Ciências Exatas / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Profa. Dra. JANETE APPARECIDA DESIDERIO
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. ROBINSON LUIZ DE CAMPOS MACHADO PITELLI
Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. MARCOS ANTONIO KUVA
Herbae - Consultoria e Projetos Agrícolas Ltda / Jaboticabal/SP

Profa. Dra. PAULA MACEDO NOBILE
Instituto Agronômico de Campinas / Ribeirão Preto/SP

Data da realização: 10 de junho de 2015.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ANA REGINA SCHIAVETTO - nascida em 30 de janeiro de 1981 na cidade de Sertãozinho, São Paulo. Em 2001, ingressou na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Ilha Solteira, no Curso de Agronomia, graduando-se como Engenheira Agrônoma em dezembro de 2006. Em fevereiro de 2007, iniciou estágio no Centro de Cana/IAC – Ribeirão Preto, na área de Fitotecnia – Matologia. Em agosto de 2008, ingressou no programa de Pós-Graduação em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal. Iniciou o Doutorado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal, em agosto 2011, no qual foi bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Realizou Estágio Docência nas disciplinas Fitopatologia Básica, do Curso de Agronomia; segundo semestre de 2012 e Experimentação Zootécnica, do Curso de Zootecnia; primeiro semestre de 2013.

Oração da Serenidade

“Concede-me Senhor, a serenidade necessária para aceitar as coisas que não posso modificar coragem para alterar as que eu posso, e sabedoria para distinguir uma da outra - vivendo um dia de cada vez, desfrutando um momento de cada vez, aceitando as dificuldades como um caminho para alcançar a paz ...”

Dedicatória

*Às pessoas mais importantes da
minha vida...*

Irineu e Regina Célia, pais amados ...

*Irineu, Sonia e Silvio, irmãos
sempre presentes na minha vida...*

Agradecimentos Especiais

A Deus...

Pelo dom da vida...

*Por estar sempre me iluminando,
Protegendo-me e abençoando-me...*

*Com pessoas maravilhosas no meu
caminho!!!*

*E por ser Onisciente, que por Teu
mistério nos torna*

Seres mais curiosos e vivazes.

Muito Obrigada!

Ao Prof. Dr. Dilermando Perecin,

*Pela oportunidade,
pelo conhecimento compartilhado,
Pela orientação e dedicação.*

Muito Obrigada!

*“A mente que se abre para uma nova idéia, jamais
voltará a seu tamanho original”*

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

De nada valeria todo o esforço se não fosse a vontade de Deus Pai, por isso, agradeço imensamente o direcionamento, proteção e graça Dele sempre presente em minha vida me fortalecendo.

À Nossa Senhora e a todos os santos que intercederam junto ao Pai nos momentos de dificuldades durante essa trajetória.

Em especial, ao pesquisador, professor, amigo e coorientador Dr. Carlos Alberto Mathias Azania pelas incansáveis conversas, dedicação e sugestões que tanto cresceram na qualidade do trabalho, da compreensão mostrada ao longo desses anos e orientação pessoal que muito contribuíram para a execução desse trabalho, assim como para a vida.

À Professora Dra. Luciana Rossini Pinto, pela orientação, por acreditar em mim (quando nem eu mesma já acreditava...) e, sobretudo, pela dedicação e sugestões que tanto cresceram na qualidade do trabalho, da compreensão mostrada ao longo desses anos.

À Universidade Estadual Paulista, câmpus de Jaboticabal, pela oportunidade concedida para a realização do curso de Pós-graduação.

Ao *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* - CNPq pelo indispensável apoio financeiro.

Ao Centro-de-Cana, em especial ao Dr. Marcos Guimarães de Andrade Landell pelo apoio ao trabalho.

Aos membros participantes da pré-banca pelas sugestões e disponibilidade.

Aos membros da banca pela gentileza de disponibilizar tempo para leitura e sugestões apresentadas para a melhoria desse trabalho.

À Dra. Andréa de Pádua Mathias Azania pelas palavras de conforto e atenção nos momentos difíceis.

Aos Pesquisadores do IAC/Centro-de-Cana: Dr. Hélio do Prado, Dr. Ivan dos Anjos, Dr. Mauro Alexandre Xavier, Dr. Sandro Brancalião, Dr. Júlio Garcia, Dra. Leila Dinardo-Miranda, Dr. Maximiliano Salles Scarpari, Dra. Luciana Souza, Dra. Samira e a Dra. Silvana Creste, Msc. Márcio Bidóia, Eng. Agr. Jeremias pelos ensinamentos e incentivos para minha formação profissional.

Aos técnicos do IAC/Centro-de-Cana, pela colaboração na condução do meu trabalho e amizade, em especial ao Leopoldino Perruco Filho e ao José Roberto Cassanelli Filho.

Aos funcionários e estagiários do IAC/Centro-de-Cana que direta ou indiretamente colaboraram para realização desta etapa na minha vida, cujos nomes e rostos se confundem na hora de agradecer, *Renan Vitorino, Ivo Soares Borges, Lucas Beluci, Tácio Peres, Marlon, Nádia, Drielle, Carol, Leticia* que durante a minha estada nunca se omitiram em esclarecer dúvidas e questionamentos relacionados à condução da pesquisa.

Aos funcionários e estagiários do Laboratório de Biotecnologia do IAC/Centro-de-Cana, que colaboraram para realização desta etapa na minha vida, e em especial *Thais, Maicon, Juliana Borges, João, Maria Natália, Maria Letícia, Cibele, Débora, Larissa, Carol, Rafael, Alexandre, Iza, Fernanda, Renata*.

Aos funcionários do Departamento de Ciências Exatas: *Zezé, Adriana, Shirley, Norival* pela colaboração e amizade.

A todos os professores da FCAV – Unesp – Jaboticabal.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, pela atenção e trabalhos prestados.

Aos funcionários da Biblioteca, pela atenção e trabalhos prestados.

Aos meus amigos *Juliano Fracasso, Daniel Carvalho Leite, Mariana Cecilia de Oliveira* (muito obrigado, sempre, por tudo!), pela sólida amizade, carinho e apoio nos momentos difíceis dessa caminhada.

Em especial ao *Fabício Simone Zera, Cássia Morilha Lorenzatto, Diego Lopes, Sueli Lopes* (muito obrigado, sempre, por tudo!), e principalmente pela preocupação e palavras de conforto durante esse árduo caminho.

Ao Pólo Regional Nordeste Paulista – Mococa, em especial Msc. Paulo Boller Gallo, e ao Pólo Regional Centro Sul – Piracicaba, Dr. Fábio Luís Ferreira Dias; pela concessão do material genético para a realização desse trabalho, sempre dispostos a ajudar.

Enfim, para aqueles que, de alguma forma, colaboraram direta ou indiretamente para a realização de mais um sonho e finalização de mais uma etapa acadêmica, deixo meus sinceros agradecimentos.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	iii
ABSTRACT	v
Introdução	1
Objetivo	2
Referências bibliográficas	3
Capítulo 1 - Considerações gerais sobre <i>Rottboellia cochinchinensis</i>	
Descrição da espécie <i>Rottboellia cochinchinensis</i> (capim-camalote)	4
Manejo de <i>Rottboellia cochinchinensis</i> em cana-de-açúcar	7
Estudo de variabilidade genética com auxílio de marcadores	10
AFLP (<i>Amplified Fragment Length Polymorphism</i>)	12
Citogenética	13
Referências bibliográficas	15
Capítulo 2 - Diversidade genética em populações de <i>Rottboellia cochinchinensis</i> presentes na cultura da cana-de-açúcar	
Resumo	26
Abstract	27
Introdução	28
Material e métodos	29
Resultados e Discussão	32
Referências bibliográficas	41
Apêndice 1	45
Capítulo 3 - Sensibilidade de diferentes populações de <i>Rottboellia cochinchinensis</i> a herbicidas	
Resumo	48

Abstract	49
Introdução	50
Material e métodos	51
Resultados e Discussão	58
Conclusão	70
Referências bibliográficas	70
Capítulo 4 - Caracterização citogenética de <i>Rottboellia cochinchinensis</i> em duas regiões do Estado de São Paulo	
Resumo	75
Abstract	76
Introdução	77
Material e métodos	78
Resultados e Discussão	80
Conclusão	83
Referências bibliográficas	83
Considerações finais	87

Caracterização molecular, citogenética e sensibilidade a herbicidas em três populações de *Rottboellia cochinchinensis* em cana-de-açúcar no Estado de São Paulo

RESUMO - A elevada produção de cana-de-açúcar no Brasil é resultado do adequado manejo usado no campo com a cultura, e quando não adequado causa perdas significativas em produtividade. Dentre os tratos culturais, está o manejo das plantas daninhas, as quais são plantas indesejáveis as culturas. Entre as plantas daninhas, o capim-camalote (*Rottboellia cochinchinensis*) destaca-se como planta de difícil controle. Esse difícil controle está associado ao reduzido número de herbicidas registrados e seletivos a cultura da cana-de-açúcar, à variabilidade genética presente nas plantas daninhas, característica intrínseca a elas, e também a dormência das sementes e o vigor das plantas. Mediante a dificuldade do controle químico observada pelos produtores elaborou-se a hipótese de que isso pode ser devido a existência de biótipos entre e dentro das diferentes populações infestantes de canaviais que respondem de forma diferente aos tratamentos com herbicidas. Para verificar esta hipótese o presente trabalho teve como objetivo estudar a variabilidade genética em plantas de *Rottboellia cochinchinensis* em três populações (municípios de Igarapava, Mococa e Piracicaba) do Estado de São Paulo, utilizando-se da técnica AFLP. Foram também avaliadas a aplicação de herbicidas em pós-emergência das plantas e a análise citogenética. Nos três locais foram realizadas coletas de folhas no terço superior da plantas e sementes, em áreas de produção comercial de cana-de-açúcar. Para a caracterização molecular seis iniciadores foram utilizados com o marcador AFLP, em 10 indivíduos por população (30 indivíduos no total), com base na presença (1) e ausência (0) de bandas, no ano de 2012. Para a sensibilidade à herbicidas o experimento foi instalado em vasos com capacidade para 20 L, em delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos químicos foram constituídos pelos herbicidas T1- ametryn (3000 g ha⁻¹); T2- isoxaflutole (135 g ha⁻¹); T3- ametryn (300 g ha⁻¹)+isoxaflutole (135 g ha⁻¹); T4- isoxaflutole (135 g ha⁻¹)+clomazone (1200 g ha⁻¹); T5- amicarbazone (1400 g ha⁻¹); T6- ametryn (3000 g ha⁻¹)+trifloxysulfuron-sodium (22,5 g ha⁻¹); T7- glyphosate (2160 g ha⁻¹); T8- MSMA

(2880 g ha⁻¹) e T9- ametryn (1500 g ha⁻¹)+clomazone (1000 g ha⁻¹), no ano de 2014. Observou-se baixa variabilidade genética (22%) pela análise de dados dos marcadores *AFLP* nas populações de capim-camalote estudadas. Foram também contados os números de cromossomos em amostras das populações de Igarapava e Mococa, observando $2n = 60$ cromossomos.

Palavras-chave: AFLP, planta daninha, *Saccharum* ssp., variabilidade genética

Molecular and cytogenetic characterization and response to herbicide of three itchgrass populations in sugarcane fields of São Paulo State, Brazil

ABSTRACT – The Brazilian high sugarcane production comes from adequate management techniques, which when non-properly used may cause significant yield losses. The weed control is one of these crop practices; such technique consists of eliminating unwelcome plants from farming areas. Among weed species, itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) can be highlighted as one of the plants difficult to be controlled. This fact may be associated to a reduced number of selective herbicides registered for sugarcane crop, weed genetic variability, seed dormancy and plant vigor. By means of the difficult chemical control faced by farmers, we have drawn up a hypothesis that such fact might be related to the existence of varied biotypes between and within the different weed populations in sugarcane fields, responding distinctly to herbicide applications. To check this hypothesis, we aimed to study the genetic variability of *Rottboellia cochinchinensis* (itchgrass) from three different populations (in the cities of Igarapava, Mococa and Piracicaba) in São Paulo State, Brazil, and using AFLP technique. Moreover, post-emergence application and cytogenetics were tested. Upper third leaf and seed samples were collected from the three locations, in areas of sugarcane commercial production. For molecular characterization, six primers were used with the AFLP marker, using 10 plants per population (30 in total), based on band presence (1) and absence (0) in the year of 2012. A completely randomized experiment was set to evaluate herbicide responses, using 20-L pots. Chemical treatments were performed by the herbicides: ametryn (3,000 g ha⁻¹) - T1; isoxaflutole (135 g ha⁻¹) - T2; ametryn (300 g ha⁻¹)+isoxaflutole (135 g ha⁻¹) T3; isoxaflutole (135 g ha⁻¹)+clomazone (1200 g ha⁻¹) T4; amicarbazone (1400 g ha⁻¹) - T5; ametryn (3,000 g ha⁻¹)+trifloxysulfuron-sodium (22.5 g ha⁻¹) - T6; glyphosate (2,160 g ha⁻¹) - T7; MSMA (2,880 g ha⁻¹) - T8 and ametryn (1,500 g ha⁻¹)+clomazone (1,000 g ha⁻¹) T9, in 2014. The AFLP marker data analysis showed a low genetic variability (22%) for the studied itchgrass population. Chromosome number was accounted for samples from Igarapava and Mococa populations, and observing 2n = 60 chromosome.

Key words: AFLP, weed, *Saccharum* ssp., genetic variability

Introdução

Segundo LORENZI (2000) planta daninha é qualquer vegetal que cresce onde não é desejado e compete com as culturas, interferindo em seu desenvolvimento até a produção final. Um dos problemas enfrentados pelos produtores de cana-de-açúcar é o capim-camalote (*Rottboellia cochinchinensis*), pois a mesma compete com a cultura por água e nutrientes, e apresenta difícil controle.

No Brasil, poucos são os estudos envolvendo essa planta daninha, embora apresente crescente importância, ainda persiste uma carência de informações sobre diversos aspectos. Está notando-se aparente variabilidade entre as plantas daninhas de uma região para outra, o que reflete a necessidade desse conhecimento, para fazer uso adequado dos herbicidas.

Devido à diversidade de patógenos, pragas e plantas daninhas que, se não manejadas de forma adequada, reduzem a produção de colmos. Dentre as espécies de plantas daninhas, o capim-camalote destaca-se como planta de difícil controle (SILVA et al. 2009), por se proliferar por qualquer parte da planta (sementes, estolões e partes vegetativas). Suas sementes apresentam dormência, o que confere diferentes fluxos de emergência durante o mesmo ciclo da cultura. Além das sementes, as plantas adultas possuem gemas nos colmos, que quando em contato com o solo, devido ao acamamento, entram em processo de brotação (SHARMA e ZELAYA, 1986).

A contenção das populações de *R. cochinchinensis* na cana-de-açúcar é agravada pela escassez de herbicidas seletivos a cultura e eficazes no controle desta planta (MAPA, 2015), particularmente em pré-emergência. Eventuais falhas no controle podem comprometer a produção da cana-de-açúcar, além de proporcionar aumento nos custos de produção (VIDAL et al., 2005) e diminuir a longevidade do canavial. As plantas não controladas pelos herbicidas em pré-emergência precisam ser contidas no manejo em pós-emergência. Com isso, herbicidas não seletivos como MSMA, glyphosate e paraquat precisam ser utilizados.

A disponibilidade de um método diagnóstico rápido, eficaz e preciso para detectar se um biótipo apresenta seletividade a herbicidas, permite a tomada de decisão correta e em tempo hábil para o manejo de plantas daninhas na área. Contudo, a biotecnologia apresenta-se promissora para o futuro na detecção destes biótipos, evitando o incremento do banco de sementes do solo e, conseqüentemente, reduzindo os custos e o impacto do manejo destes.

No Estado de São Paulo, a espécie é encontrada localizada em poucos municípios (Igarapava, Mococa, Piracicaba, Dumont, Porto Ferreira). Mas, devido à dificuldade de controle associada à alta agressividade esta espécie apresenta elevado potencial de disseminação para outros municípios em poucos anos. Produtores têm relatado controles satisfatórios da espécie em algumas localidades e insatisfatórios em outras. Os resultados distintos podem ser atrelados à variabilidade genética entre as populações, promovendo a existência de biótipos. Para identificar possíveis biótipos conta-se com a técnica de marcadores moleculares, uma ferramenta da biologia molecular.

Objetivo

A tese teve como objetivo geral a caracterização molecular, citogenética e avaliação de diferentes herbicidas para controle químico da espécie *R. cochinchinensis*.

Os objetivos específicos foram:

Descrever a espécie *R. cochinchinensis* com informações sobre a interferência na cana-de-açúcar, a variabilidade genética com auxílio de marcadores, a sensibilidade à herbicidas e a análise citogenética.

Estudo da variabilidade genética entre populações de capim-camalote distantes geograficamente, presentes no Estado de São Paulo, utilizando-se como ferramenta a técnica de AFLP.

Análise do comportamento das populações com relação a herbicidas.

Análise do número cromossômico de duas populações de capim-camalote, no Estado de São Paulo.

Referências bibliográficas

LORENZI, H. Plantas daninhas do Brasil. **Instituto Plantarum**, 3. ed. p. 379, 2000.

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://www.extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_const.com.br>. Acesso em: 10 jan. 2015.

SHARMA, D.; ZELAYA, O. Competition and control of itchgrass (*Rottboellia exaltata*) in maize (*Zea mays*). **Tropical Pest Management**, v. 32, p. 101-104, 1986.

SILVA, C. E. B.; PARREIRA, M. C.; ALVES, P. L. C. A.; PAVANI, M. C. M. D. Aspectos germinativos de capim-camalote (*Rottboellia cochinchinensis*). **Planta Daninha**, v. 27, n. 2, p. 273-281, 2009.

VIDAL, R. A.; HERNANDES, G. C.; WINKLER, L. M.; FEDERIZZI, L. C.; SILVA, P. R. Relação entre distância geográfica e variabilidade genética de uma população de *Bidens* spp. com resistência aos herbicidas inibidores de ALS. **Planta Daninha**, v. 24, n. 1, p. 149-155, 2005.

Capítulo 1 – Considerações gerais sobre *Rottboellia cochinchinensis*

Descrição da espécie *Rottboellia cochinchinensis* (capim-camalote)

O gênero *Rottboellia* pertence à família Poaceae (anteriormente Gramineae), conhecida na língua inglesa por *itchgrass* e no Brasil por capim-camalote. Existe uma confusão em relação à identificação e *Rottboellia cochinchinensis* foi reclassificada como *Ophiuros exaltatus* (L.) Kuntze, a qual não ocorre em regiões tropicais. *Rottboellia exaltata* L.f. é de ocorrência pantropical. Pelo problema de homonomia foi proposto então o nome de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) Clayton (KISSMANN, 1997).

Essa espécie é a representante mais importante do gênero (KISSMANN, 1997) e pode ser tanto uma planta anual como perene, dependendo das condições climáticas onde é encontrada. Geralmente, em clima tropical comportam-se como perenes e em clima temperado como anuais, e se reproduzem por sementes (KISSMANN, 1997).

Uma única planta pode chegar a produzir até 16 mil sementes, com parte dos propágulos prontamente germináveis ao entrarem em contato com o solo. A outra parte é dormente, sendo o período de dormência de diversos meses (KISSMANN, 1997).

HESLOP-HARRISON (1959) e LORENZI (2000) observaram que o período de dormência pode ser de até 4 anos. Esse irregular período de dormência das sementes no solo faz com que haja diversos fluxos de germinação durante o ciclo das culturas (ROJAS et al., 1994); SHARMA e ZELAYA (1986) e LORENZI (2000)). A temperatura ótima para a germinação da semente é de 25°C (CONABIO, 2013).

A espécie ainda pode ser multiplicada por pedaços de caules, os quais apresentam gemas nos nós (KISSMANN, 1997). A maioria dos nós apresentam 1 ou 2 ramos ascendentes que se desenvolvem sob as bainhas (KISSMANN, 1997).

A planta forma touceiras constituídas de até 50 colmos, que podem atingir até 2,5 m de altura com até 1 cm de espessura na base (LORENZI, 2000). Os

colmos são cilíndricos, preenchidos de tecido esponjoso, estriados, lisos com alguns pêlos esparsos e suas raízes são fibrosas, emergentes acima dos nós da superfície (KISSMANN, 1997). Ainda segundo o autor, devido à sua elevada adaptabilidade ecológica, apresenta ocorrência nos mais diversos ambientes produtivos e também é conhecida por “caminhadeira”. Planta de crescimento rápido, que prefere ambientes quentes e úmidos, os quais favorecem seu desenvolvimento. Muito comum encontrar essa planta daninha à beira de rodovias. Desenvolvem-se sob plena insolação ou com certo sombreamento. O florescimento está relacionado com o fotoperiodismo, ocorrendo quando o número de horas diárias de luz é menor que 13 horas. No Estado de São Paulo, o florescimento ocorre nos meses do verão (KISSMANN, 1997).

Há relatos de que a espécie tenha entrado no Brasil no final da década de 1950, infestando sementes de arroz, provavelmente provenientes da Colômbia (DEUBER, 1992). Hoje, encontra-se com maior frequência na Região Norte e Centro-Oeste, mas, já existem focos de ocorrência no Estado de São Paulo (CARVALHO et al., 2005).

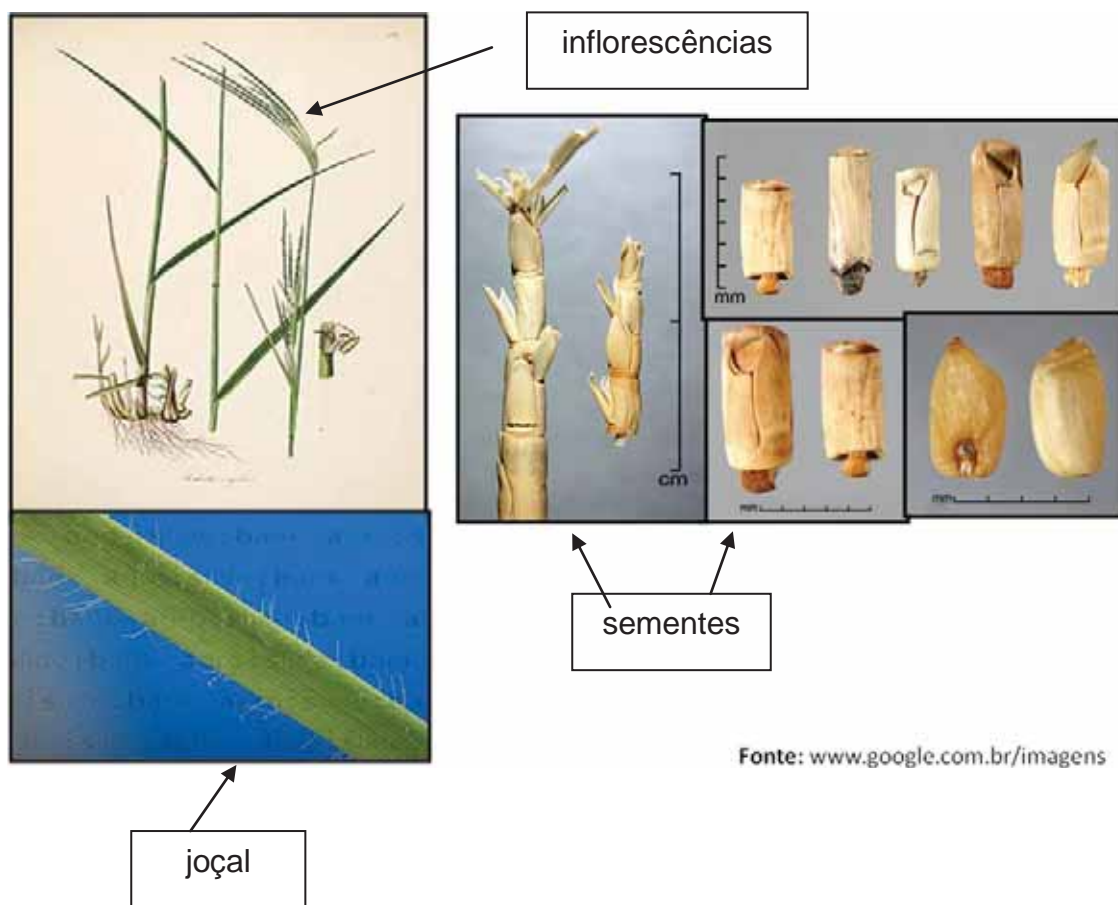


Figura 1. Imagens de *Rottboellia cochinchinensis* – planta, sementes e joçal.



Figura 2. Plantas de *Rottboellia cochinchinensis* em talhão de cana-de-açúcar. Igarapava, 2012.

Manejo de *Rottboellia cochinchinensis* em cana-de-açúcar

No Brasil, as perdas ocasionadas às culturas agrícolas pela interferência das plantas daninhas são de aproximadamente 20-30% (VIEIRA et al., 2007; KUVA, et al. 2000) podendo chegar até 86% (LORENZI, 1983) na ausência de controle.

Na cana-de-açúcar *R. cochinchinensis* proporciona perdas de rendimento de até 100% em cana-planta e até 80% em cana-soca (ARÉVALO e BERTONCINI, 1994). Em outras culturas, como no milho, também há relatos de até 80% de perdas de produtividade (ANZALONE et al., 2006).

Para GÁMEZ et al. (2013) o capim-camalote é uma espécie agressiva, com ampla distribuição e de difícil controle. Assim, para minimizar seus prejuízos é preciso integrar métodos de controle preventivo, cultural, mecânico e químico (SANTOS e ABREU, 2014). O capim-camalote, assim como outras plantas daninhas agressivas, acarreta redução significativa na produção de colmos, decréscimo da longevidade do canavial, redução da qualidade industrial da matéria-prima e dificuldade nas operações de colheita e transporte (FERREIRA et al., 2010).

CORREIA et al. (2013) estudaram a emergência de *R. cochinchinensis* influenciada pela profundidade da sementeira pela quantidade de palha de cana na superfície do solo e pelo uso de herbicida residual, observaram maior eficácia no controle da espécie quando se fez uso de clomazone ($1,20 \text{ kg ha}^{-1}$) e imazapyr ($0,20 \text{ kg ha}^{-1}$) em pré-emergência da espécie, independentemente do nível de palha ($5, 10, \text{ e } 15 \text{ t ha}^{-1}$) sobre a superfície do solo.

Dentre os métodos de controle, o mais praticado pelos produtores é o químico (FREITAS et al., 2004). A adoção dos produtos químicos aumenta a eficiência de controle em programas de manejo de plantas daninhas, tornando o controle mais rápido e econômico, e permitindo que o produtor empregue a mão-de-obra disponível na propriedade em outras atividades (FREITAS et al., 2004).

LORENZI (1988) observou que o capim-camalote pode causar perdas no peso dos colmos da cultura cana-de-açúcar de até 85% acarretando na

diminuição no número de cortes. Essa planta daninha também é muito competitiva com a cultura do milho agravando o controle devido, a maioria dos herbicidas recomendados para essa cultura ser tolerante à espécie (CHIKOYE et al., 2000).

No Brasil, encontra-se pouca literatura sobre manejo químico de *R. cochinchinensis* em canaviais, especialmente para herbicidas aplicados em pré-plantio-incorporado (ppi). No entanto, nos Estados Unidos encontra-se mais pesquisas com a espécie, devido essa ser uma das principais plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar e soja (HARGER et al. (1982); MILLHOLLON, 1965)).

HARGER et al. (1982) relataram que os herbicidas do grupo das dinitroanilinas proporcionam bom controle de capim-camalote.

Quando a trifluralina foi aplicada na pré-emergência (2,2 L ha⁻¹) com posterior aplicação de asulam (3,7 kg ha⁻¹) observou-se um controle de 94% desta espécie (MILLHOLLON, 1986). STRAHAN et al. (2000) observaram uma redução no rendimento da cultura do milho, de aproximadamente 30%, quando infestada por capim-camalote.

Na cultura da cana-de-açúcar, pendimethalin, prodiamina, fomesafen e clomazone apresentaram melhor controle do que a trifluralina no solo (LENCSE et al., 1992). Aplicação de tebuthiuron apresentou controle até aos 90 DAA, com eficácia acima de 90% (ESQUIVEL, 2005). O autor também observou que misturas de tebuthiuron+diuron-hexazinona (1,000+816+102,2 g ha⁻¹) e tebuthiuron+diuron (1,000+1,200 g ha⁻¹) foram às melhores opções de controle quando as plantas já se encontravam na fase de pós-emergência.

Para se obter um controle eficaz os produtores não devem negligenciar pulverizações locais ou remoção manual das plantas. E sim realizar a combinação dos manejos preventivos, cultural, mecânico e químico; para impedir a produção de sementes reduzindo-se assim, o banco de sementes sobre o solo cultivado (GRIFFIN, et al. 2010).

Na Louisiana, alguns produtores adotaram esse manejo e têm observado bons resultados na eliminação dessa planta daninha, a qual vem

causando problemas na redução da produtividade da cultura de cana-de-açúcar (GRIFFIN et al., 2010).

A produção de sementes começa a partir da 7ª semana depois da emergência das plantas, sendo esta produção contínua durante todo o período de crescimento da planta (MILLHOLLON, 1965). Assim, ocorrem fluxos de emergência da espécie em diferentes épocas devido à dormência apresentada pelas sementes, de acordo com (HOLM et al., 1977).

FREITAS et al. (2004) observaram que a combinação de trifloxysulfuron-sodium+ametryn ($0,037+1,465 \text{ kg ha}^{-1}$, respectivamente); MSMA+diuron ($2,88+1,12 \text{ kg ha}^{-1}$) e diuron+paraquat ($0,30+0,60 \text{ kg ha}^{-1}$) foram eficazes no controle *R. cochinchinensis*, quando pulverizado em plantas com seis a oito folhas. HOOK e KITCHEN (1984) estudaram o controle de capim camalote com asulam, seguido por dalapon ou misturas em tanque de asulam+dalapon, e relataram que a eficácia das misturas foi maior em pós-emergência, quando comparado com os resultados de cada herbicida isolado.

ALVES et al. (2003) ao identificar e caracterizar diferentes acessos de capim-camalote nos municípios do Estado de São Paulo (Aramina, Campinas, Dumont, Igarapava, Jaboticabal e Ribeirão Preto) encontraram variabilidade entre as populações com marcador *RAPD* e análises citogenéticas.

Assim, as ferramentas da biotecnologia, a exemplo dos marcadores moleculares, apresentam-se como promissoras para a identificação de biótipos de plantas daninhas, os quais, posteriormente, poderão ser avaliados quanto à seletividade a herbicidas.

Portanto, o eficiente controle das plantas daninhas requer um estudo prévio da época de interferência com a cultura e do nível de variabilidade genética das espécies daninhas em questão. Um método diagnóstico rápido, eficaz e preciso para detectar se uma determinada espécie apresenta biótipos de difícil controle químico pode ser obtido com o uso dos marcadores moleculares, permitindo a tomada de decisão correta e em tempo hábil para o seu manejo.

Estudo de variabilidade genética com auxílio de marcadores

No melhoramento genético, estudos sobre variabilidade são importantes para acrescentar informações que podem auxiliar no manejo das culturas (AGOSTINETTO et al., 2010). A variabilidade genética em populações de plantas pode ser estudada pelas características morfológicas, agronômicas, por isoenzimas e através dos marcadores moleculares (VIDAL et al., 2005).

Os marcadores moleculares identificam todo e qualquer fenótipo molecular proveniente de um gene expresso, como no caso de isoenzimas, ou de um segmento específico de DNA (correspondendo a regiões expressas ou não do genoma) FERREIRA e GRATTAPAGLIA, (1998).

Os marcadores moleculares permitem acessar a variabilidade genética ao nível de DNA das plantas (VIDAL et al., 2005). Essa técnica é rápida e eficaz para estudos genômicos, uma vez que detectam polimorfismo diretamente ao nível do DNA, diferenciando dois ou mais indivíduos, sem sofrer influência ambiental, superando as dificuldades encontradas nas caracterizações morfológicas e fenotípicas (SOUZA, 2001). Estes são aplicados na identificação e verificação de variabilidade genética entre acessos, análise de pureza genética, análise de diversidade genética, construção de coleções de base e seleção de genes de interesse agrônômico (KONSTANTINOV et al., 2005). Além disso, os marcadores moleculares podem ser usados para avaliação da estrutura e função do genoma em processos evolucionários nas plantas cultivadas.

Pesquisas na área da ciência das plantas daninhas têm crescido com o uso dos marcadores, pois possibilita examinar a estrutura genética em populações, quantificar a diversidade genética e caracterizar a sua distribuição. Além disso, possibilita a dispersão padrão, o fluxo gênico, e respostas à herbicida (ZANATTA e ZANATTA, 2012).

As espécies de plantas daninhas apresentam elevada variabilidade genética entre plantas de uma população ou entre populações, com amplitude para adaptação ao manejo (HOLT e HOCHBERG, 1997). Vários estudos nesse sentido têm sido realizados, através dos marcadores para a identificação de

biótipos (ZANATTA e ZANATTA, 2012) e para, posteriormente, auxiliar no manejo empregado para as mesmas.

Os diferentes tipos de marcadores em uso nesses estudos diferenciam-se pela tecnologia utilizada quanto à habilidade de detectar diferenças entre indivíduos, ao custo, à facilidade de uso, à consistência e à repetibilidade dos resultados (MILACH, 1998).

Dentre os marcadores moleculares utilizados nas pesquisas agrícolas, pode-se destacar o de polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição (*RFLP-PCR*), polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (*RAPD*), polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados (*AFLP*) e microssatélites (*SSR*) (KARP et al. 1996; FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998; MELO et al., 2001).

Estudos para avaliar diversidade genética em culturas de interesse agrônômico, fazendo uso das técnicas de marcadores, têm-se os realizados com milho pipoca (VILELA et al., 2008), maracujazeiro (VIANA et al., 2005), soja (VIEIRA et al., 2009; PRIOLLI et al., 2002).

Dentre os estudos sobre variabilidade genética em plantas daninhas encontram-se as pesquisas de VIDAL et al. (2005) com *Bidens* spp., PEREIRA et al. (2008) com capim-elefante; VIEIRA et al. (2007) *Commelina benghalensis* e AMBIEL et al. (2008) com *Brachiaria* spp., entre outras.

Um marcador que tem sido muito utilizado nas pesquisas de detecção de variabilidade entre populações de plantas daninhas é o AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), pois sua metodologia baseia-se na amplificação do DNA por PCR (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998). Trata-se de um método rápido e eficaz para detectar possíveis diferenças em uma amostra de material selecionada e digerida com enzimas de restrição, conforme descrito por VOS et al. (1995). Além disso, não há necessidade de se ter o conhecimento prévio do genoma da espécie a ser estudada.

AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*)

AFLP é uma técnica desenvolvida por ZABEAU (1993) e é intermediária entre as técnicas de RFLP e PCR (VOS et al., 1995). É um método que associa a técnica de PCR com a confiabilidade da técnica de RFLP, indicada para mapeamento e caracterização. Com o desenvolvimento desta técnica, sua utilização tem sido crescente para o estabelecimento de *fingerprinting* (VOS et al. 1995).

A técnica AFLP consiste em quatro etapas. A primeira etapa é onde o DNA genômico total do indivíduo é clivado por duas enzimas de restrição, uma de corte raro (6 a 8 pares de base) e a outra de corte frequente (4 pares de base), sequencialmente. Após a digestão, na segunda etapa, ocorre a ligação dos adaptadores, os quais permitem que os fragmentos de DNA cortados se liguem a pequenos oligonucleotídeos de DNA de sequência conhecida. Na terceira etapa, uma fração dos fragmentos gerados é amplificada seletivamente via PCR, utilizando os *primers* para reconhecer as sequências nos adaptadores, com a presença de 1 a 3 bases adicionais na extremidade 3' e marcados por fluorescência. Na última etapa, a sub-população de fragmentos amplificados é separada em gel de alta resolução, sendo visualizados os fragmentos de clivagem combinada (rara/frequente) de tamanho intermediário (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998).

Esta técnica detecta um grande número de locos, a partir da quantidade em nanogramas de DNA, possibilitando assim, uma boa cobertura do genoma. A análise dos dados é realizada com base na presença ou ausência de sítios de enzimas de restrição e as sequências polimórficas adjacentes a esses sítios, e são normalmente marcadores dominantes (MAJER, 1996).

Apresentam as características de alta especificidade, boa reprodutibilidade e alto poder discriminatório (VOS et al., 1995). Os padrões de bandamento gerados pelo AFLP são altamente reprodutíveis, devido ao pareamento específico dos *primers* aos nucleotídeos - adaptadores complementares (VOS et al., 1995).

Entre as vantagens dos marcadores *AFLP* estão: grande número de fragmentos gerados e resolvidos em um único gel, sendo muito eficiente na amostragem ampla e simultânea de um genoma; grande poder de detecção de variabilidade genética, explorando simultaneamente o polimorfismo de presença e ausência de sítios de restrição (como o *RFLP*) e a ocorrência ou não de amplificação a partir de sequências arbitrárias (como o *RAPD*); maior robustez do *AFLP* em relação ao *RAPD*, devido à utilização de *primes* mais longos, aumentando a especificidade da amplificação, a repetibilidade, o alto grau de polimorfismo e o mais alto número de marcadores obtidos por gel analisado (VOS et al., 1995).

A principal limitação dos marcadores *AFLP* é o baixo conteúdo de informação genética por loco, ou seja, a informação se refere apenas ao fragmento amplificado onde, apenas um alelo é detectado. As demais variações alélicas são classificadas como um alelo nulo. O *AFLP* é classificado como marcadores “dominantes”, e os dados têm natureza binária (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998; LIU, 1998 e RAMALHO et al., 2000).

Devido à grande capacidade de detecção de variabilidade genética em plantas com essa técnica, estudos têm sido realizados com sucesso em diversas culturas (HONGTRAKUL et al., 1997). Como exemplos, podemos citar trabalhos sobre diversidade em soja (MAJER, 1996) e milho (LABORDA, 2005; GUIMARÃES et al., 2007). Essa técnica foi utilizada nos estudos de DNA *fingerprinting* (POWELL et al., 1996); diversidade genética (HOFFMAN e DAHLEEN, 2002; AITKEN et al., 2006); mapeamento genético (KIDO, 2003; MENZ et al., 2002).

Citogenética

A citogenética é um estudo básico e clássico em ciências biológicas, pois é o estudo sobre os cromossomos. É a ciência que estuda a constituição genética da célula por meio dos cromossomos (GUERRA, 2002); fundamental para a caracterização de materiais utilizados em programas de melhoramento.

SINGH (1993) analisou a citogenética como a ciência que combina a análise dos cromossomos (técnicas de coloração), função e movimento (divisão celular, meiose e mitose), número e estrutura (análise do cariótipo), assim como, as modificações da estrutura e comportamento e, como estão relacionadas à recombinação, transmissão e expressão dos genes.

Esse estudo analisa e explica como a estrutura e o comportamento dos cromossomos garante a função de conservar a informação genética que é transmitida de pais para filhos, ou seja, as características do DNA (LACADENA, 1996).

Apesar da importância que o gênero *Rottboellia* está apresentando na produção da cana-de-açúcar, os estudos citogenéticos são escassos. Entre as gramíneas pode existir variabilidade genética e em função de sua importância econômica na agroindústria, o estudo do número de cromossomos e o nível de ploidia na família Poaceae têm despertado interesse.

KISSMANN (1997) realizou a contagem do número de cromossomos em *Rottboellia*, e observou que esta pode ser considerada diplóide, tetraplóide e hexaplóide, com respectivamente 20, 40, 60 cromossomos, além de existir plantas com número irregular, 36 cromossomos.

Outros estudos citogenéticos foram realizados em *Paspalum* (POZZOBON e VALLS, 2003) e *Axonopus* (VALLS, 2000), sendo realizado também em germoplasma de *Brachiaria* (MENDES-BONATO et al., 2002), *Pennisetum* (TECHIO et al., 2002).

Para SYBENGA (1998) os estudos citogenéticos desempenham a função de gerar informações e fornecer métodos para manipulação genética. Assim, diferentes técnicas citogenéticas podem ser usadas para fornecer dados para contribuir nas decisões dos melhoristas e pesquisadores durante o programa de melhoramento.

As metodologias clássicas, como a coloração convencional e o bandeamento não fluorescente, continuam sendo metodologias importantes para as pesquisas em algumas espécies (EDER-SILVA et al., 2007) pois, dependendo do objetivo do estudo, os cromossomos podem ser avaliados em células que estejam em divisão meiótica ou mitótica (ABREU et al., 2006).

CASTRO (2008) observou que o número de cromossomos e a descrição do cariótipo com o uso de técnicas simples são características citogenéticas úteis, pois complementam o uso da similaridade morfológica ou fisiológica na taxonomia botânica.

Entretanto, a partir de 1980, com o progresso da biologia molecular, esse estudo passou a empregar uso de técnicas mais sofisticadas, pois, muitas vezes, os padrões cromossômicos revelados pela coloração convencional não são suficientes para análise detalhada de um cariótipo. Assim, técnicas que marcam regiões específicas do genoma como os bandeamentos *FISH* (Hibridação Fluorescente *in situ*) e *GISH* (Hibridação Genômica *in situ*) passaram a ser utilizadas no estudo de identificação cromossômica e comparação cromossômica inter e intra-específica (MORAES, 2007).

Esses estudos são de grande importância para estratégias de conservação de germoplasma de espécies e em trabalhos de melhoramento de plantas (AULER et al., 2006; BATTISTIN et al., 2006).

Referências bibliográficas

ABREU, J. C.; DAVIDE, L. C.; PEREIRA, A. V.; BARBOSA, S. Mixoploidia em híbridos de capim-elefante x milho tratados com agentes antimitóticos.

Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 41, n. 11, p. 1629-1635, 2006.

AGOSTINETTO, D.; TAROUCO, C. P.; MARKUS, C.; OLIVEIRA, E.; SILVA, J. M. B. V.; TIRONI, S. P. Seletividade de genótipos de eucalipto a doses de herbicidas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 585-598, 2010.

AITKEN, K. S.; JACKSON, A. P.; MCLNTYRE, C. L. Quantitative trait loci identified for sugar related traits in a sugarcane (*Saccharum* spp.) cultivar x *Saccharum officinarum* population. **Theoretical Applied Genetics**, v. 20, p. 100-112, 2006.

ALVES, P. L. C. A.; BACHEGA, M. F.; MORO, J. R.; LEMOS, M. V. F.; ALVES, E. C. C.; SILVA, M. A. S.; MORO, F. V. Identification and characterization of different accessions of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*). **Weed Science**, v. 51, n. 2, p. 177-180, 2003.

AMBIEL, A. C.; GUABERTO, L. M.; VANDERLEI, T. M.; MACHADO NETO, N. B. Agrupamento de acessos e cultivares de três espécies de *Brachiaria* por RAPD. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 30, n. 4, p. 457-464, 2008.

ANZALONE, A.; GÁMEZ, A.; MELÉNDEZ, L. Evaluación de la interferencia de *Rottboellia cochinchinensis* sobre el maíz (*Zea mays* L.) através de un método aditivo. **Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)**, v. 23, p. 373-38, 2006.

ARÉVALO, R. A.; BERTONCINI, E. I. Biologia e manejo de *Rottboellia exaltata* na cultura da cana-de-açúcar *Saccharum* spp.: análise do problema. Piracicaba: Estação Experimental de cana-de-açúcar- IAC, p. 24, 1994.

AULER, N. M. F.; BATTISTIN, A.; REIS, M. S. Número de cromossomos, microsporogênese e viabilidade do pólen em populações de carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) DC.] do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 2, p. 55-63, 2006. Disponível em http://www.sbpmed.org.br/download/issn_06/artigo10_v8_n2.pdf. Acesso em: 10 jan. 2015.

BATTISTIN, A.; CONTERATO, I. F.; PEREIRA, G. M.; PEREIRA, B. L.; SILVA, M. F. Biologia floral, microsporogênese e número cromossômico em cinco espécies de plantas utilizadas na medicina popular no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, p. 56-62, 2006.

CARVALHO, S. J. P.; MOREIRA, M. S.; NICOLAI, M.; OVEJERO, R. F. L.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; MEDEIROS, D. Crescimento e desenvolvimento da planta daninha capim-camalote. **Bragantia**, v. 64, n. 4, p. 591-600, 2005.

CASTRO, J. P. **Números cromossômicos em espécies de cataceae ocorrentes no nordeste do Brasil**. 2008. 71 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba - Centro de Ciências Agrárias, Areia, 2008.

CHIKOYE, D.; MANYONG, V. M.; EKELEME, F. Characteristics of spear grass (*Imperata cylindrica*) dominated fields in West Africa: Crops, soil properties, farmer perception sand management strategies. **Crop Protection**, v. 19, n. 6, p. 481-487, 2000.

COMISIÓN NACIONAL PARA EL CONOCIMIENTO Y USO DE LA BIODIVERSIDAD – CONABIO. Disponível em:<<http://www.conabio.gob.mx/>>. Acesso em: 12 set. 2013.

CORREIA, N. M.; GOMES, L. P.; PERUSSI, F. J. Emergence of *Rottboellia exaltata* influenced by sowing depth, amount of sugarcane straw on the soil surface, and residual herbicide use. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 35, n. 2, p. 145-152, 2013.

DEUBER, R. **Ciência das plantas infestantes: fundamentos**. Jaboticabal: FUNEP, v. 1, p. 211, 1992.

EDER-SILVA, E.; FELIX, L. P.; BRUNO, R. L. A. Citogenética de algumas espécies frutíferas nativas do nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 1, p. 110-114, 2007.

ESQUIVEL, V. A. E. Efecto de herbicidas sobre plantas y semillas de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) w. clayton, encaña de azúcar. **Agronomía Mesoamericana**, v. 16, n. 1, p. 45-50, 2005.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 2 ed. **Embrapa-Cenargen**, p. 220, 1998.

FERREIRA, E. A.; PROCÓPIO, S. O.; GALON, L.; FRANCA, A. C.; CONCENÇO, G.; SILVA, A. A.; ASPIAZU, I.; SILVA, A. F., TIRONI, S. P.; ROCHA, P. R. R. Weed Management in Raw Sugarcane, **Planta Daninha**, v. 28, n. 4, p. 915-925, 2010.

FREITAS, S. P.; OLIVEIRA, A. R.; FREITAS, S. J.; SOARES, L. M. S. Controle químico de *Rottboellia exaltata* em cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v. 22, n. 3, p. 461-466, 2004.

GÁMEZ. A.; ZAMBRANO, C.; RAMIS, C. Caracterización metabólica y enzimática de la resistencia al herbicida nicosulfuron en biotipos de *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton. **Bioagro**, v. 25, n. 1, 2013.

GRIFFIN, J. L.; STRAHAN, R. P.; MILLER, D. K.; LEJEUNE, K. R. Tillage effects on itchgrass seedling emergence and changes in the seed soil reservoir. **Journal American Society of Sugar Cane Technologists**, v. 30, p. 81, 2010.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia prático de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Editora Fumpec, p. 131, 2002.

GUIMARÃES, P. S.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z; LÜDERS, R. R; SOUZA, A. P. de; LABORDA, P. R.; OLIVEIRA, K. M. Correlation between the heterosis of maize hybrids and genetic divergence among lines. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 6, 2007.

HARGER, T. R.; VIDRINE, P. R.; NESTER, P. R. Control and management of itchgrass. **La Agricultura**, v. 25, n. 4, p. 20-21, 1982.

HESLOP-HARRISON, J. Photoperiod and Fertility in *Rottboellia exaltata* L.f. **Annal of Botany**, v. 23, p. 345-349, 1959.

HOFFMAN, D.; DAHLEEN, L. Markers polymorphic among malting barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars of a narrow gene pool associated with key QTLs. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 105, p. 544–554, 2002.

HOLM, L. G.; PLUCKNETT, D. L.; PANCHO, J. V.; HERBERGER, J. P. 1977. The World's Worst Weeds. Distribution and Biology. **Honolulu**, p. 609, HOLT e HOCHBERG, 1997.

HOLT, R. D.; HOCHBERG, M. E. When is biological control evolutionary stable (or is it?). **Ecology**, v. 78, n. 14, p. 1673-1683, 1997.

HONGTRAKUL, V.; HUESTIS, G. M.; KNAPP, S. J. Amplified fragment length polymorphisms as a tool for DNA fingerprinting sunflower germplasm: genetic diversity among oilseed inbred lines. **Theoretical and Applied Genetics**, n. 95, p. 400-407, 1997.

HOOK, B. J.; KITCHEN, L. M. Activity of asulam/dalapon combinations on itchgrass and johnsongrass. Proc. South. **Weed Science**, v. 37, p. 121, 1984.

KARP, A.; SEBERG, BUIATTI, M. Molecular techniques in the assessment of botanical diversity. **Annals of Botany**, v. 78, n. 2, p. 143-149, 1996.

KIDO, E. A. **Mapeamento de marcadores moleculares AFLP em população derivada de clones elite de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) e suas associações com caracteres agronômicos**. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, 164 f., 2003.

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

KONSTANTINOV, K.; DRINIC, S. M.; SIJACIC, M.; ISAJEV, V.; MATARUGA, M. Molecular markers application for genetic resources characterization of different plant species. In: The role of biotechnology, Turin, Italy. **Annals**, p. 179-180, 2005.

KUVA, M. A.; PITELLI, R. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; ALVES, P. L. C. A. Períodos de interferência das plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar. I – Tiririca. **Planta Daninha**, v. 18, n. 2, p. 241-251, 2000.

LABORDA, P. R.; OLIVEIRA, K. M.; GARCIA, A. A. F.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; SOUZA, A. P. Tropical maize germoplasm: what can we say about its genetic diversity in the light of molecular markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 111, p. 1288-1299, 2005.

LACADENA, L. R. **Citogenética**. Editorial Complutense, p. 928, 1996.

LENCSE, R. J.; GRIFFIN, J. L.; RICHARD, E. P., Jr. Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) control in sugarcane with post-emergence herbicides. **Journal - American Society of Sugar Cane Technologists**, v. 12, p. 9-15, 1992.

LIU, B. H. Statistical genomics: linkage, mapping and QTL analysis. **CRC Press**, 611p., 1998.

LORENZI, H. Plantas daninhas do Brasil. **Instituto Plantarum**, 3. ed. p. 379, 2000.

LORENZI, H. Plantas daninhas e seu controle na cultura da cana-de-açúcar. In: SEMINÁRIO DE TECNOLOGIA AGRONÔMICA, n. 4, 1988, **Anais...** COPERSUCAR, p. 281-301, 1988.

LORENZI, H. Plantas daninhas e seu controle na cana-de-açúcar. In: REUNIÃO TÉCNICA AGRONÔMICA, 1983, Piracicaba. **Anais...** São Paulo: COPERSUCAR, p. 59-73, 1983.

MAJER, D.; MITHEN, R.; LEWIS, B. G.; VOS, P.; OLIVER, R. P. The use of AFLP fingerprinting for the detection of genetic variation in fungi. **Mycological Research**, v. 100, n. 9, p. 1107-1111, 1996.

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://www.extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_const.com.br>. Acesso em: 10 jan. 2015.

MELO, W. M. C.; PINHO, R. G. V.; SANTOS, J. B.; FERREIRA, D. F. Utilização de caracteres morfo-agronômicos e marcadores moleculares para a avaliação da divergência genética entre híbridos de milho. **Revista Ceres**, v. 48, n. 276, p. 195-207, 2001.

MENDES-BONATO, A. B., PAGLIARINI, M. S., FORLI, F., VALLE, C. B.; PENTEADO, M. I. O. Chromosome number and microsporogenesis in *Brachiaria brizantha* (Gramineae). **Euphytica**, v. 125, n. 3, p. 419-425, 2002.

MENZ, A. M.; KLEIN, R. R.; MULLER, E. J.; OBERT, A. J.; UNRUH, C. N.; KLEIN, E. P. A high density genetic map of *Sorghum bicolor* (L.) Moench based on 2926 AFLP, RFLP and SSR markers. **Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 483-489, 2002.

MILACH, S. C. K. Marcadores de DNA. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 5, p. 14-17, 1998.

MILLHOLLON, R. W. Control of itchgrass [*Rottboellia cochinchinensis* Lour.] Clayton] in sugarcane with post emergence herbicide treatments. **Sugar Cane Technology**, v. 19, p. 80- 91, 1986.

MILLHOLLON, R. W. Growth characteristics and control of *Rottboellia exaltata* L.f. a new weed in sugarcane. **Sugar Bulletin**, v. 44, p. 82-88, 1965.

MORAES, A. P. **Utilização de marcadores cito-moleculares na identificação de cromossomos mitóticos em Citrus e Poncirus**. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal de Pernambuco, 143 f., 2007.

PEREIRA, A. V.; MACHADO, M. A.; AZEVEDO, A. L. S.; NASCIMENTO, C. S.; CAMPOS, A. L.; LÉDO, F. J. S. Genetic diversity among elephantgrass accessions estimated by molecular markers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 7, 2008.

POWELL, W.; MORGANTE, M.; ANDRE, C.; HANAFEY, M.; VOGEL, J.; TINGEY, S.; RAFASKI, A. The comparasion of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for gemplasm analysis. **Molecular Breeding**, v. 2, p. 225-238, 1996.

POZZOBON, M. T.; VALLS, J. F. M. Chromosome number in Brazilian germoplasm accessions of *Paspalum hydrophilum*, *P. modestum* and *P.*

palustre (Gramineae; Paniceae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, p. 365-368, 2003.

PRIOLLI, R. H. G.; MENDES-JUNIOR, C. T.; ARANTES, C. E.; CONTEL, E. P. B. Characterization of Brazilian soya bean cultivars using microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, p. 185-193, 2002.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. Genética na agropecuária. **UFLA**, p. 472, 2000.

ROJAS, C. E.; DE LA CRUZ, R.; MERAYO, A. La profundidad y duración en el suelo de la semilla de caminadora (*Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) Clayton) y su efecto sobre la viabilidad y persistencia en el trópico seco. **Manejo Integrado de Plaga**, v. 32, p. 25-29, 1994.

SANTOS, P. S. J.; ABREU, A. F. B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. Disponível em: <<http://www.nucleoestudo.ufla.br/gen/permuta/edicoes/2000/semi00s/paulosergio.htm>> Acesso em: 19 set. 2014.

SHARMA, D.; ZELAYA, O. Competition and control of itchgrass (*Rottboellia exaltata*) in maize (*Zea mays*). **Tropical Pest Management**, v. 32, p. 101-104, 1986.

SINGH, R. J. **Plant cytogenetics**. Urbana: University of Illinois, p. 391, 1993.

SOUZA, A. P. Biologia molecular aplicada ao melhoramento. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELLO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.) **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**, p. 939-965, 2001.

STRAHAN, R. E., GRIFFIN, J. L., REYNOLDS, D. B.; MILLER, D. K. Interference between *Rottboellia cochinchinensis* and *Zea mays*. **Weed Science**, v. 48, p. 205-211, 2000.

SYBENGA, J. Forty years of cytogenetics in plant breeding a personal view. In: LELLEY, T. Current Topics in plant cytogenetics related to plant improvement. **Universitäts Verlag**, p. 22-33, 1998.

TECHIO, V. H.; DAVIDE, L. C.; PEREIRA, A. V.; BEARZOTI, E. Cytotaxonomy of some species and of interspecific hybrids of *Pennisetum* (Poaceae, Poales). **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, n. 2, p. 203-209, 2002.

VALLS, J. F. M. Impacto do conhecimento citogenético na taxonomia de *Paspalum* e *Axonopus* (Gramineae). In: CAVALCANTI, T. B.; WALTER, B. M. T. (Org). **Tópicos atuais em botânica**. SBB/Embrapa Recursos e Biotecnologia, p. 57-60, 2000.

VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; SOUZA, M. M.; MALDONADO, J. F. M. Diversidade genética entre genótipos comerciais de maracujazeiro-amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de passifloras nativas determinada por marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 489-493, 2005.

VIDAL, R. A.; HERNANDES, G. C.; WINKLER, L. M.; FEDERIZZI, L. C.; SILVA, P. R. Relação entre distância geográfica e variabilidade genética de uma população de *Bidens* spp. com resistência aos herbicidas inibidores de ALS. **Planta Daninha**, v. 24, n. 1, p. 149-155, 2005.

VIEIRA, E. S. N.; IVAN SCHUSTER, I; SILVA, R. B.; OLIVEIRA, M. A. R. Variabilidade genética em cultivares de soja determinada com marcadores microsatélites em gel de agarose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 11, p. 1460-1466, 2009.

VIEIRA, V. C.; ALVES, P. L. C. A.; LEMOS, M. V. F.; SENA, J. A. D. Variabilidade genética em acessos de trapoeraba (*Commelina benghalensis* L.). **Arquivos Instituto Biológico**, v. 74, n. 4, p. 315-320, 2007.

VILELA, F. O.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; PEREIRA, M. G.; SCAPIM, C. A.; VIANA, A. P.; FREITAS JÚNIOR, S. P. Effect of recurrent selection on the genetic variability of the UNB-2U pop corn population using RAPD markers. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 30, n. 1, p. 25-30, 2008.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; van de LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA *fingerprinting*. **Nucleic Acids Research**, v. 23, n. 21, p. 4407-4414, 1995.

ZABEAU, M; VOS, P. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA *fingerprinting*. **European Patent Office**, Bulletin 93/13, 1993.

ZANATTA, T. S. C.; ZANATTA, J. F., Aplicações da Biotecnologia no estudo de plantas daninhas. **Revista Científica da Faculdade de Balsas**, Ano III, n. 3, 2012.

Capítulo 2 - Diversidade genética em populações de *Rottboellia cochinchinensis* presentes na cultura da cana-de-açúcar

RESUMO – Considerando a hipótese de que a dificuldade de controle observada pelos produtores com a espécie do gênero *Rottboellia* pode ser dada pela existência de biótipos nas populações. Para verificar a hipótese, objetivou-se estudar a variabilidade genética entre três populações de *R. cochinchinensis* em regiões de cana-de-açúcar do Estado de São Paulo, utilizando-se da técnica AFLP. Para a caracterização molecular seis iniciadores foram utilizados para obtenção dos dados. Os géis de AFLP foram analisados com base na presença (1) e na ausência (0) de marcas. Utilizando-se o software NTSYs, foi calculada a similaridade genética pelo coeficiente de Jaccard e, a partir dele, construído o dendrograma pelo método UPGMA, além da determinação das marcas isopolimórficas. As semelhanças genéticas médias observadas nas regiões foram 0,742 para Igarapava, 0,793 para Mococa, 0,808 para Piracicaba, e entre as regiões foram 0,730 para Igarapava x Mococa, 0,735 para Mococa x Piracicaba, e 0,694 para Igarapava x Piracicaba. Em consonância com o dendrograma, podemos observar a formação de três grupos, um formado por quatro indivíduos, sendo dois do local de Igarapava e de Mococa e outro pelo local Piracicaba e os demais indivíduos, com exceção do indivíduo um de Piracicaba. Podemos concluir que a similaridade genética entre as populações de capim-camalote coletadas no Estado de São Paulo foi elevada (78%), o que evidencia que o manejo realizado entre as populações estudadas devem ser similar. No entanto, não se podem descartar a presença de biótipos nas populações, como é sugerido pela presença de marcas polimórficas, detectadas pelo marcador AFLP, gerando 22% de variabilidade genética média.

Palavras chave: AFLP, capim-camalote, manejo, *Saccharum* spp., variabilidade

Chapter 2 – Genetic diversity of itchgrass populations in sugarcane fields in São Paulo State, Brazil

ABSTRACT – Considering the idea that itchgrass are difficult to be controlled due to the existence of various biotypes. To check this hypothesis, we aimed to study the genetic variability of three itchgrass populations (*Rottboellia cochinchinensis*) in sugarcane fields of São Paulo State, using AFLP marker technique. Six primers were used to obtain molecular characterization data. AFLP gels were analyzed based on marker presence (1) and absence (0). Using NTSYS software, the genetic similarity was calculated by Jaccard coefficient and, from it, a dendrogram was built through UPGMA method, besides determining the isopolymorphic marks. Genetic similarity of the locations was on average 0.742 for Igarapava, 0.793 for Mococa, 0.808 for Piracicaba, and between regions it was 0.730 (Igarapava x Mococa), 0.735 (Mococa x Piracicaba), and 0.694 (Igarapava x Piracicaba). In line with the dendrogram, it is possible to detect the formation of three groups, one with for plants, two from Igarapava and Mococa and the other from Piracicaba, and the other plants, except for plant one from Piracicaba. It can be concluded that the genetic similarity among itchgrass populations from São Paulo State was high (78%), which denotes management similarities among the population. However, biotype existence cannot be discarded, because of the polymorphic marks generating 22% average genetic variability.

Key words: AFLP, itchgrass, management, *Saccharum* spp., variability

Introdução

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar e o melhoramento genético tem sido um dos grandes responsáveis pelos avanços com o desenvolvimento de cultivares superiores, quer pela maior produtividade, quer pela adaptação às mudanças climáticas (LANDELL e BRESSIANI, 2010).

No entanto, um dos entraves para obtenção de maiores produtividades dos canaviais é o controle das plantas daninhas, que deve ser realizado de maneira correta com a integração de diversas técnicas incluindo o uso de herbicidas.

Rottboellia cochinchinensis, conhecida como capim-camalote é uma espécie vigorosa e prolífica, pois, uma única planta é capaz de emitir até 100 perfilhos e produzir mais de 16.000 sementes (SMITH et al., 2001). Trata-se de uma espécie agressiva, com ampla distribuição e de difícil controle, principalmente devido à escassez de herbicidas seletivos a cultura e eficazes ao controle (MAPA, 2015).

A variabilidade genética é uma característica inerente às populações de plantas daninhas (VIDAL et al., 2006), o que de maneira geral, pode favorecer o aparecimento de novos biótipos nas populações. Esta variabilidade pode contribuir para ocorrência de respostas diferentes de populações de plantas daninhas à aplicação de herbicidas (CIRCUNVIS et al. 2014).

As técnicas moleculares têm facilitado e potencializado a análise genética de plantas, auxiliando os estudos sobre variabilidade genética em várias espécies. A técnica de *AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)* se baseia na amplificação seletiva, via PCR, de fragmentos de DNA genômico total gerados pela clivagem com enzimas de restrição (VOS et al. 1995), e apresenta ampla rastreabilidade na detecção da amplificação de marcas no DNA de diferentes tamanhos pela reação de polimerase em cadeia (PCR) na presença da enzima termoestável 'Taq DNA polimerase' (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998).

Como vantagens essa técnica apresenta o alto grau de polimorfismo e alto número de marcadores obtidos por gel analisado, baixo custo (VOS et al.

1995) e há não necessidade do conhecimento prévio do genoma da espécie a ser estudada. Entretanto, a principal limitação dos marcadores *AFLP* é o baixo conteúdo de informação genética por loco, pois, esses são de natureza dominante e os dados têm natureza binária (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998).

Assim, pode-se fazer uso das técnicas da biotecnologia para o estudo de variabilidade genética dos biótipos de plantas daninhas, visando aprimorar as técnicas de manejo. A técnica de *AFLP* tem sido empregada para avaliar a diversidade genética de muitas espécies de plantas, dentre elas, podem ser citadas *Amaranthus palmeri* (CHANDI et al., 2013) e *Veronica hederifolia* (WU et al., 2010). ROCHA et al., (2009) estudaram a variabilidade genética de quatro espécies de *Commelina* com *RAPD* e ALVES et al. (2003) utilizando do marcador *RAPD* identificaram e caracterizaram diferentes populações de *Rottboellia cochinchinensis*.

Assim, os relatos de produtores quanto às infestações de capim-camalote nos canaviais e a agressividade no desenvolvimento das plantas, elaborou-se a hipótese de que a dificuldade de controle observada pelos produtores com a espécie do gênero *Rottboellia* pode ser dada pela existência de biótipos nas populações. Para verificar a hipótese, objetivou-se estudar a variabilidade genética entre três populações de *R. cochinchinensis* em regiões de cana-de-açúcar do Estado de São Paulo, utilizando-se da técnica *AFLP*.

Material e métodos

As coletas das folhas de capim-camalote foram realizadas em áreas de produção comercial de cana-de-açúcar, entre os meses de março a agosto/2012. Os locais foram os municípios de Igarapava, Mococa e Piracicaba, localizados no Estado de São Paulo, como observado na Figura 1.

As folhas jovens de capim-camalote foram coletadas no terço superior das plantas em diferentes pontos amostrais distanciados entre si, em média, de 10 metros. Cada local correspondeu à coleta de 10 plantas (indivíduos).

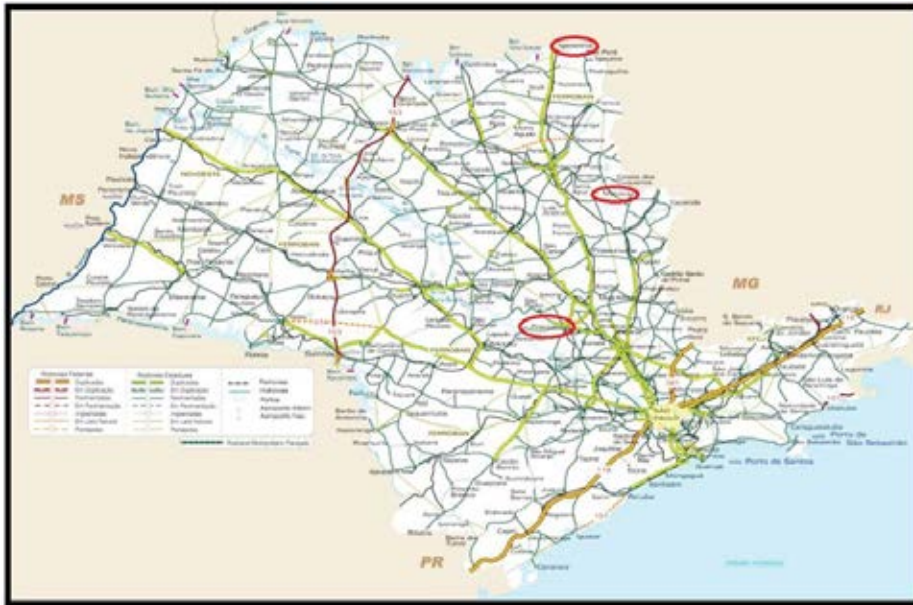


Figura 1. Localização das áreas no coleta município de Igarapava, Mococa e Piracicaba/SP.

As folhas de cada indivíduo foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas, colocadas na caixa de isopor com gelo no campo e, mantidas em ultrafreezer (-80 °C) até a coleta de todas as populações para se realizar a extração do DNA em laboratório.

O DNA foi extraído do tecido foliar de folhas jovens de cada indivíduo, por meio da metodologia CTAB, descrito segundo AL-JANABI et al. (1999). O DNA de cada indivíduo foi quantificado na presença de um padrão de DNA do fago λ de quantidades conhecidas em gel de agarose 0.8% (p/v) corado com brometo de etídio.

As reações de AFLP foram conduzidas de acordo com o protocolo descrito por VOS et al. (1995). De forma sumarizada, 200ng de DNA genômico foram digeridos com as enzimas *EcoRI* e *MspI* (2.5 unidades cada) em tampão OPA –*One Phor All* (10mM Tris.HAc pH 7.5, 10mM MgAc, 50mM KAc, 5 mM DTT), por três horas a temperatura de 37°C e, posteriormente a 65°C por 5 minutos para inativação da enzima. Após a digestão, foi realizada a ligação dos adaptadores e o produto da digestão/ligação foi diluído 6 vezes em água ultrapura para a realização da reação de pré-amplificação. A reação de pré-amplificação foi realizada em um volume final de 15 μ L contendo 1X Buffer; 3,33 μ M *EcoRI*+0; 3,33 μ M *MspI*+0; 0,17 mM dNTPs; 2 mM MgCl₂ e 0,2

unidades de Taq DNA polimerase e 2,5 µL da reação de digestão/ligação diluída 6X. A programação do termociclador consistiu em 29 ciclos a 94°C durante 30 segundos, 56°C por 1 minuto e 72°C durante 1 minuto.

Os produtos da reação de pré-amplificação foram diluídos 10X com água ultrapura e utilizados como molde para as reações seletivas, na qual foram utilizados iniciadores com três nucleotídeos seletivos adicionados à extremidade 3' dos iniciadores. A reação seletiva foi conduzida em um volume final de 10 µL contendo Tampão 1X; 0,11 µM *EcoRI Dye* 800; 0,25 µM *MspI*; 0,27 mM dNTPs; 2 mM MgCl₂; 2 unidades de Taq DNA polimerase e 2,5 µL do produto da reação de pré-amplificação diluído 10X. A programação do termociclador consistiu em um ciclo a 94°C por 30 segundos, 65°C por 30 segundos, 72°C por 1 minuto; 12 ciclos (94°C por 30 segundos, 65°C por 30 segundos (menos 0,7°C por ciclo), 72°C por 1 minuto) seguido de 23 ciclos (94°C por 30 segundos, 56°C por 30 segundos, 72°C por 1 minuto).

As seis combinações de *primers* utilizadas foram: *EcoRIACC/MspIGAG*, *EcoRIACA/MspIACT*, *EcoRIACA/MspIGAG*, *EcoRIACC/MspIACT*, *EcoRIAGA/MspITTG*, *EcoRIAGA/MspITCG*. O produto da reação seletiva foi aplicado em gel de poliacrilamida a 6%. As amostras foram desnaturadas a 95°C por 5 minutos e imediatamente transferidas para o gel. Como padrão de peso molecular, foi utilizado o *ladder* de 50 - 350 pares de base (pb). Os fragmentos foram separados em sequenciador automático (4300 DNA Analyzer - *Licor*). As imagens obtidas foram arquivadas para posterior genotipagem com o auxílio do *software* Align IR.

A análise de similaridade genética foi realizada utilizando o coeficiente de Jaccard, o qual pode ser representado pelo modelo matemático $S_{ij} = a/(a + b + c)$, em que a é o número de concordâncias do tipo 1 1; b é o número de discordâncias do tipo 1 0; e c é o número de discordâncias do tipo 0 1. Foi utilizado esse coeficiente devido às suas características matemáticas que desconsideram a ausência de marcas como sinônimo de similaridade genética e atribuem diferentes pesos à presença conjunta de marcas (CRUZ e CARNEIRO, 2003).

As relações de similaridade genética foram visualizadas pela construção do dendrograma pelo método de agrupamento UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*), utilizando-se do programa NTSYS (ROHLF, 1992), visando identificar se há variabilidade entre os indivíduos das populações coletadas.

Foram também determinadas para cada combinação de *primers* seletivos, o número de marcas apresentando o mesmo padrão de polimorfismo entre os indivíduos avaliados (marcas isopolimórficas), porém em locos diferentes.

Resultados e Discussão

Produtos da amplificação

A utilização das seis combinações de *primers* seletivos na avaliação da variabilidade genética de capim-camalote (*Rottboellia cochinchinensis*) coletados em três populações (municípios) do Estado de São Paulo gerou um total de 399 marcas com uma média de 66,5 marcas por combinação (Tabela 1).

Todas as combinações de *primers* utilizadas apresentaram maior porcentagem de marcas monomórficas, exceto a combinação EcoRIACC/MspIACT que apresentou a maior porcentagem de marcas polimórficas (Tabela 1). O número de marcas polimórficas variou de 12 a 19, sendo a combinação mais polimórfica EcoRIACC/MspIACT (58,06%) com total de 31 marcas. A combinação menos polimórfica foi a EcoRIACA/MspIACT (16,81%) com total de 113 marcas.

VIEIRA et al. (2007) em populações de *Commelina benghalensis* identificaram 84 marcas, dessas oito apresentaram perfil monomórfico, pela técnica de RAPD. HALDIMANN et al. (2003) identificaram 328 marcas com uso do marcador AFLP na espécie *Senecio vulgaris*, utilizando quatro combinações de pares de *primers*, dos quais 111 foram polimórficos. Utilizando seis

combinações de *primers* em populações de *R. cochinchinensis* foram identificadas 399 marcas, 101 polimórficas e 298 monomórficas.

Tabela 1. Número de marcas por combinações de *primers* seletivo, discriminando o total de marcas monomórficas e polimórficas, obtidas com marcador AFLP, 2015.

Combinações	% marca monomórficas	% marca polimórficas	Total de marcas
EcoRIACC/MspIGAG	63,27 (31)	36,73 (18)	49
EcoRIACA/MspIACT	83,19 (94)	16,81 (19)	113
EcoRIAGA/MspITCG	78,67 (59)	21,33 (16)	75
EcoRIACA/MspIGAG	72,73 (48)	27,27 (18)	66
EcoRIACC/MspIACT	41,94 (13)	58,06 (18)	31
EcoRIAGA/MspITTG	81,54 (53)	18,46 (12)	65
Total	298	101	399

A espécie *Rottboellia cochinchinensis* foi classificada como autógama possuindo duas flores, uma hermafrodita e a outra do sexo masculino ou estéril (MILLHOLLON e BURNER, 1993). Assim, o elevado número de marcas monomórficas (298 marcas) observadas com a espécie *Rottboellia* pode ser atribuído ao modo de reprodução por autofecundação ou apomixia, conferindo a mesma constituição genética da planta-mãe (DALL'AGNOL e SCHIFINO-WITTMANN, 2005).

Análise da similaridade genética entre os indivíduos

A similaridade genética média dentro de cada local ou população pode ser observada na Tabela 2. A menor similaridade genética média dentro de local foi obtida na população de Igarapava, próximo de 74%. Os outros dois

locais apresentaram similaridade genética média de 79,3 e 80,8%, respectivamente para Mococa e Piracicaba. Entre locais, a similaridade genética média foi de 73% para Igarapava x Mococa; 69,4% para Igarapava x Piracicaba e 73,5% para Mococa x Piracicaba (Tabela 2).

Tabela 2. Similaridade genética média (SGm) observada dentro e entre das populações de coleta de *Rottboellia cochinchinensis*, 2015.

SGm dentro de populações			
	Igarapava	Mococa	Piracicaba
	0,742	0,793	0,808
SGm entre populações			
	Igarapava	Mococa	Piracicaba
Igarapava	---		
Mococa	0,730	---	0,735
Piracicaba	0,694	0,735	---

A similaridade genética média entre as populações foi de aproximadamente 78%, considerada alta, o que se pode inferir que a variabilidade genética entre as populações foi baixa. Essa similaridade entre as populações, independentemente da localização geográfica pode ter acontecido devido aos fatores homogeneizadores da população, como autofecundação, apomixia e reprodução vegetativa (VIDAL et al., 2006).

As plantas daninhas colonizam ambientes com diferentes características ambientais e assim, devido sua capacidade de sobrevivência proporcionada pela variabilidade genética nas populações (WINKLER et al., 2003), sugere-se que essa espécie estudada tenha base genética estreita, devido a uniformidade das bandas entre as populações.

Assim, a presença de marcas monomórficas pode ser usada como marcadores da estabilidade genética das plantas, ou seja, isso pode ser devido

ao efeito fundador da espécie, ou seja, essas populações podem ter se desenvolvido a partir de poucos materiais genéticos introduzidos. Segundo DEUBER (1992), essa espécie foi introduzida no Brasil por sementes de arroz e, devido à semelhança das sementes, essas eram cultivadas juntas.

A espécie *Eichornia crassipes* também apresentou elevada similaridade genética e, segundo CARDOSO et al. (2002) isso pode ser explicado, pela reprodução vegetativa modo de reprodução desta espécie. Plantas autógamas, devido ao seu modo de reprodução, apresentam menor ocorrência de fluxo gênico, levando a espécie à homozigose. WINKLER et al. (2003) estudando biótipos de *Euphorbia heterophylla*, utilizando a técnica de *RAPD*, encontraram 40% de similaridade genética média, valor considerado baixo pelo autor.

Com as marcas isopolimórficas (Tabela 3) nota-se que as 101 marcas polimórficas podem ser representadas por 52 marcas isopolimórficas isoladas ou em grupos isopolimórficos (Apêndice 1, Tabela 3a). As melhores combinações de *primers* seletivos foram EcoRIACC/MspIGAG, EcoRIAGA/MspITCG e EcoRIAGA/MspITTG e as demais combinações não apresentaram resultados bons com nesse estudo, devido ter sido determinadas muitas marcas isopolimórficas. A combinação EcoRIAGA/MspITTG foi a mais eficiente no estudo com a espécie *R. cochinchinensis* devido ao baixo número de marcas isopolimórficas (2 marcas isopolimórficas/12 marcas polimórfica) e a combinação EcoRIACC/MspIACT a menos eficiente com o estudo da espécie, devido terem sido determinadas 26 marcas isopolimórficas (101marcas polimórficas - 18 marcas polimórficas dentro da combinação), Tabela 3.

Tabela 3. Marcas e combinações de *primers* seletivos no conjunto dos 30 indivíduos de *Rottboellia cochinchinensis*, 2015.

Marcas polimórficas	Combinações <i>primers</i> seletivos	Marcas isopolimórficas	
		dentro combinações	com outras combinações
X1-X18	EcoRIACC/MspIGAG	6/18	20/(101-18)
X19-X37	EcoRIACA/MspIACT	17/19	20/(101-19)
X38- X53	EcoRIAGA/MspITCG	5/16	15/(101-16)
X54-X71	EcoRIACA/MspIGAG	12/18	19/(101-18)
X72-X89	EcoRIACC/MspIACT	11/18	26/(101-18)
X90-X101	EcoRIAGA/MspITTG	2/12	14/(101-12)

Os menores valores de similaridade genética dentro de cada população (Tabela 4) foram observados entre os indivíduos 25 e 30 (38,7%) de Igarapava; entre os indivíduos 15 e 30 (46,2%) de Mococa e entre os indivíduos 1 e 7 (46,4%) de Piracicaba. Esses valores apontam os indivíduos mais dissimilares para cada população. Assim, não podemos afirmar que essa seja uma espécie totalmente autógama, podendo ocorrer fecundação cruzada na mesma.

Os maiores valores de similaridade genética foram encontrados entre os indivíduos 7 e 20 (90,9%) na população de Igarapava; entre os indivíduos 1 e 5 (91,7%); 7 e 25 (90,9%) e 20 e 23 (90,4%) da população de Mococa e entre os indivíduos 5 e 15 (92,2%); 5 e 17 (97,7%); 5 e 20 (97,5%) e 17 e 20 (97,4%) dentro da população que abrange os indivíduos de Piracicaba (Tabela 4). Esses valores apontam os indivíduos mais similares dentro de cada população, ou seja, uma população deve apresentar a mesma resposta a fatores do meio que as demais populações estudadas, uma vez que características de ambiente (solo, precipitações, temperatura) sejam similares.

Entre as populações (Tabela 4) os indivíduos mais similares foram: 5 e 10 (93,5%); 5 e 23 (90,6%); 7 e 1 (97,0%); 7 e 30 (96,7%); 10 e 1 (91,4%); 10 e 7 (90,9%); 10 e 25 (95,0%); 10 e 30 (94,4%); 15 e 7 (93,6%); 20 e 1 (93,1%); 20 e 5 (97,0%); 20 e 17 (94,1%) para Igarapava x Mococa, entre os indivíduos 10 e 5 (92,7%); 10 e 20 (94,1%); 15 e 25 (90,2%) entre Igarapava x Piracicaba e entre Mococa x Piracicaba os indivíduos mais similares foram 7 e 5 (93,6%); 7 e 17 (90,7%); 7 e 20 (90,0%); 25 e 5 (95,3%); 25 e 17 (95,0%); 25 e 20 (97,3%); 30 e 5 (90,0%); 30 e 15 (90,5%); 30 e 17 (94,4%); 30 e 20 (94,3%); 30 e 30 (97,1%) (Tabela 4).

De acordo, com VIDAL et al. (2006) populações de plantas daninhas com elevada similaridade genética entre os indivíduos, independentemente da localização geográfica, leva ao indicativo de ocorrência de fatores homogenizadores da população, como autofecundação, apomixia e reprodução vegetativa (clones). A espécie *R. cochinchinensis* apresenta estrutura floral que favorece autofecundação (MILLHOLLON e BURNER, 1993).

ALVES et al. (2003) caracterizaram seis populações de capim-camalote, no Estado de São Paulo, encontrando diferenças morfológicas e moleculares (técnica de RAPD). Associaram as diferenças ao número dos cromossomos e respectiva ploidia. Neste trabalho, a variabilidade foi considerada baixa e o número de cromossomos constante ($2n = 60$), sugerindo que esse tipo deve ser o mais comum nos canaviais avaliados.

Pela análise de agrupamento UPGMA obteve-se o dendrograma, onde ocorreu a formação de dois grupos bem distintos e um indivíduo (Piracicaba 1) formando um grupo a parte dos demais (Figura 1), com similaridade genética média de 78%, entre os indivíduos. O grupo 1 pode ser subdividido em 2 subgrupos, formado por indivíduos provenientes de Igarapava e Mococa (indivíduos: IGA 1 - 5, MOC 20 - 23, IGA 23 - 30) (Figura 1). O grupo 2 conteve os demais indivíduos provenientes dos três locais (Piracicaba, Mococa e Igarapava) analisados. A formação desses grupos pode ter sido devido à disseminação das sementes pela água da chuva, pássaros, homem, devido essas sementes serem leves e terem germinado próximo à planta-mãe sugerindo assim que essas populações analisadas sejam geneticamente próximas (CIRCUNVIS et al, 2014), evidenciando um ancestral em comum.

O indivíduo 1 do local Piracicaba mais distante dos demais na matriz, pode-se devido a ocorrência de biótipos dentro das populações coletadas, exemplificado pelas 101 marcas polimórficas observadas nos géis, com o marcador AFLP.

VIVIAN et al., (2008) sugerem que indivíduos podem receber estímulos do ambiente durante ou após a sua formação, permitindo alterar seu comportamento a partir da liberação da planta-mãe. Assim, para realizar o manejo de *Rottboellia*, é importante conhecer a diversidade genética de suas populações, pois, um dos fatores que podem contribuir nas diferentes respostas de plantas daninhas à aplicação de herbicidas é a variabilidade genética presente nas mesmas (CHRISTOFFOLETI e LÓPEZ-OVEJERO, 2003).

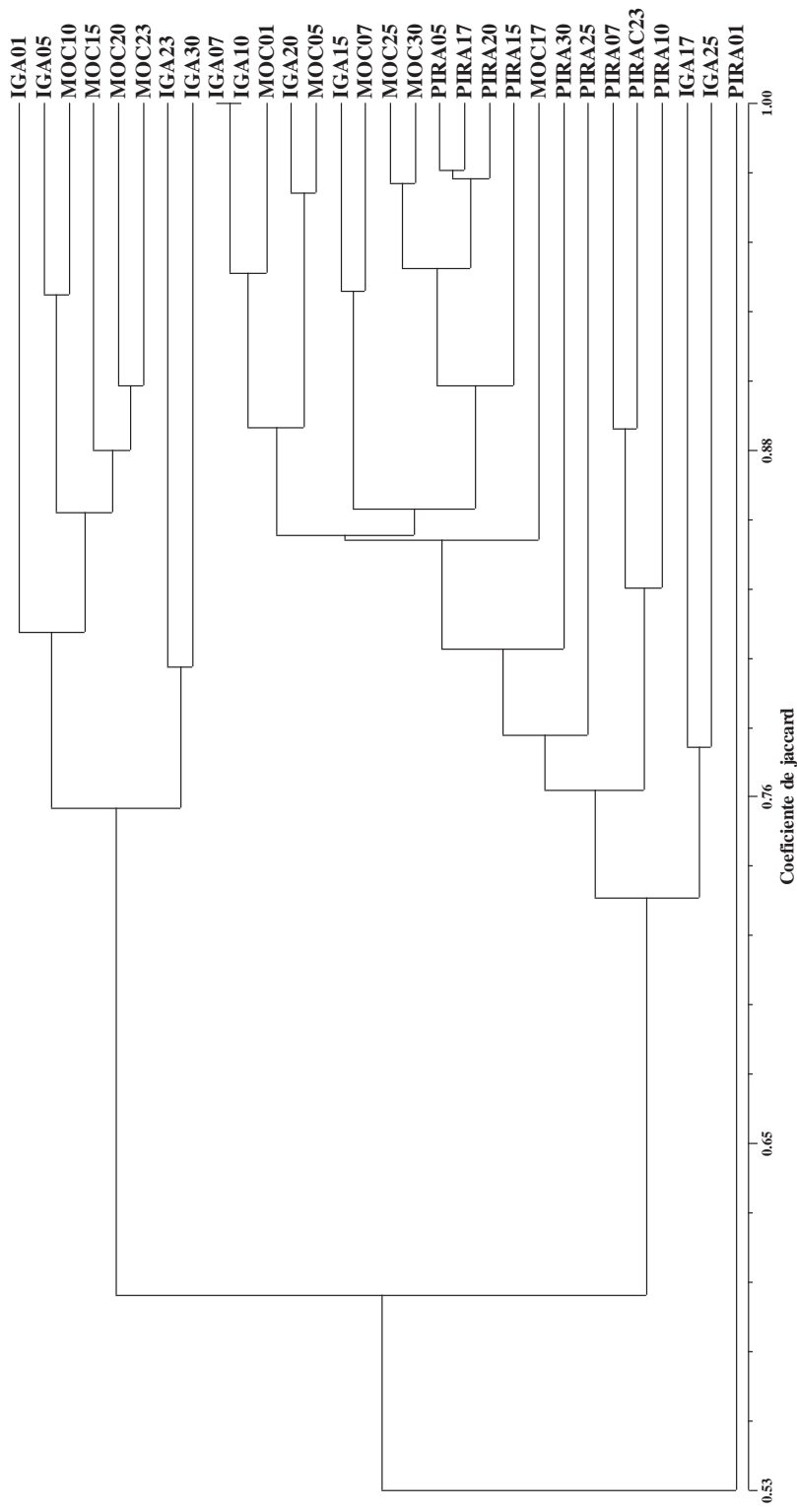


Figura 1. Dendrograma de similaridade genética média a partir do coeficiente de Jaccard com agrupamento pelo método UPGMA entre os locais de estudo (IGA=Igarapava, MOC=Mococa e PIRA=Piracicaba), 2015.

Com a ocorrência da espécie *R. cochinchinensis* em vários países (HOLM et al., 1977) é observado que essa é uma espécie com alta adaptabilidade, característica esta que depende diretamente da diversidade genética da espécie. Desse modo, esperava-se encontrar maior porcentagem de variabilidade genética entre as populações da espécie coletadas para o estudo do que a observada no presente trabalho. Isso talvez possa ser explicado pelo efeito fundador. Na literatura, tem sido discutida a possibilidade da ação do efeito fundador e similaridade genética entre populações de plantas daninhas. O efeito fundador é definido como o estabelecimento de uma nova população por poucos indivíduos, ou seja, ocorreu formação da população a partir de uma única mãe, carregando consigo somente uma pequena fração da variação genética total da população parental (RIDLEY, 2003).

Assim, pelas análises genéticas, podemos concluir, que a similaridade genética entre as populações de capim-camalote coletadas nos municípios de Igarapava, Mococa e Piracicaba, Estado de São Paulo, foi elevada (78%), o que evidência que o manejo realizado entre as populações estudadas devem ser similar. No entanto, não se podem descartar a presença de biótipos nas populações, devido à presença de marcas polimórficas, pelo marcador AFLP, gerando cerca de 22% de variabilidade genética média.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo; ao Pólo Regional Nordeste Paulista – Mococa e ao Pólo Regional Centro Sul - Piracicaba, pela concessão do material para a realização desse trabalho.

Referências bibliográficas

AL-JANABI, S. M.; FORGET, L.; DOOKUN, A. An improved and rapid protocol for the isolation of polysaccharide- and polyphenol-free sugarcane DNA. **Plant Molecular Biology Reporter**, n. 17, p. 1-8, 1999.

ALVES, P. L. C. A.; BACHEGA, M. F.; MORO, J. R.; LEMOS, M. V. F.; ALVES, E. C. C.; SILVA, M. A. S.; MORO, F. V. Identification and characterization of different accessions of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*). **Weed Science**, v. 51, n. 2, p. 177-180, 2003.

CARDOSO, L. R.; MARTINS, D.; MORI, E. S.; TERRA, M. A. Variabilidade genética entre populações de *Pistia stratiotes*. **Planta Daninha**, v. 23, n. 2, p. 181-185, 2005.

CHANDI, A.; MILLA-LEWIS, S.R.; JORDAN, D. L.; YORK, A. C.; BURTON, J. D.; ZULETA, M. C.; WHITAKER, Jr.; CULPEPPER, A. S. Use of AFLP markers to assess genetic diversity in Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*) populations from North Carolina and Georgia. **Weed Science**, v. 61, p. 136–145, 2013.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; LÓPEZ-OVEJERO, R. F. Definições e situação da resistência de plantas daninhas aos herbicidas no Brasil e no mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P. J. (Coord.) **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. Londrina: Associação Brasileira de Ação a resistência de Plantas aos Herbicidas (HRAC-BR), p. 2-21, 2003.

CIRCUNVIS, B. C.; RENESTO, E.; MANGOLIN, C. A.; MACHADO, M. F. P. S.; TAKASUSUKI, M. C. C. R. Caracterização genética de amostras de *Conyza* spp. do estado do Paraná. **Planta Daninha**, v. 32, n. 1, 2014.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. UFV, v. 2, p. 585, 2003.

DALL'AGNOL, M.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T. Apomixia, genética e melhoramento de plantas. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 2, p. 127-133, 2005.

DEUBER, R. **Ciência das plantas infestantes: fundamentos**. Jaboticabal: FUNEP, v. 1, p. 211, 1992.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2 ed., p. 220, 1998.

HALDIMANN, P.; STEINGER, T.; MÜLLER-SCHÄRER, H. Low genetic differentiation among seasonal cohorts in *Senecio vulgaris* as revealed by amplified fragment length polymorphism analysis. **Molecular Ecology**, v. 12, n. 10, p. 2541-2551, 2003.

HOLM, L. G.; PLUCKNETT, D. L.; PANCHO, J. V.; HERBERGER, J. P. The Worlds Worst Weeds, Distribution and Biology. **Honolulu**, p. 609, 1977.

LANDELL, M. G. A.; BRESSIANI, J. A. Melhoramento genético, caracterização e manejo varietal. In: DINARDO-MIRANDA, L.; VASCONCELOS, A. C. M. de; LANDELL, M. G. A. (Org.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônômico, p. 101-156, 2010.

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://www.extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_const.com.br>. Acesso em: 10 jan. 2015.

MILLHOLLON, R. W.; BURNER, D. M. Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) Biotypes in World Populations. **Weed Science**, v. 41, n. 3, p. 379-387, 1993.

RIDLEY, M. **Evolution**. Oxford: Blackwell, p. 768, 2003.

ROCHA, D. C.; RODELLA, R. A.; MARINO, C. L.; MARTINS, D. Genetic variability among *Commelina* weed species from the states of Paraná and São Paulo, Brazil. **Planta Daninha**, v. 27, n. 3, p. 421-427, 2009.

ROHLF, F. J. **NTSYS-pc**: numerical taxonomy and multivariate analysis system: version 1.10. New York: Exeter Software, p. 470, 1992.

SMITH, M. C. et al. Integrated management of itchgrass in a corn cropping system: Modelling the effect of control tactics. **Weed Science**, v. 49, n. 1, p. 123-134, 2001.

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

VIEIRA, V. C.; ALVES, P. L. C. A.; LEMOS, M. V. F.; SENA, J. A. D. Variabilidade genética em acessos de trapoeraba (*Commelina benghalensis* L.). **Arquivos Instituto Biológico**, v. 74, n. 4, p. 315-320, 2007.

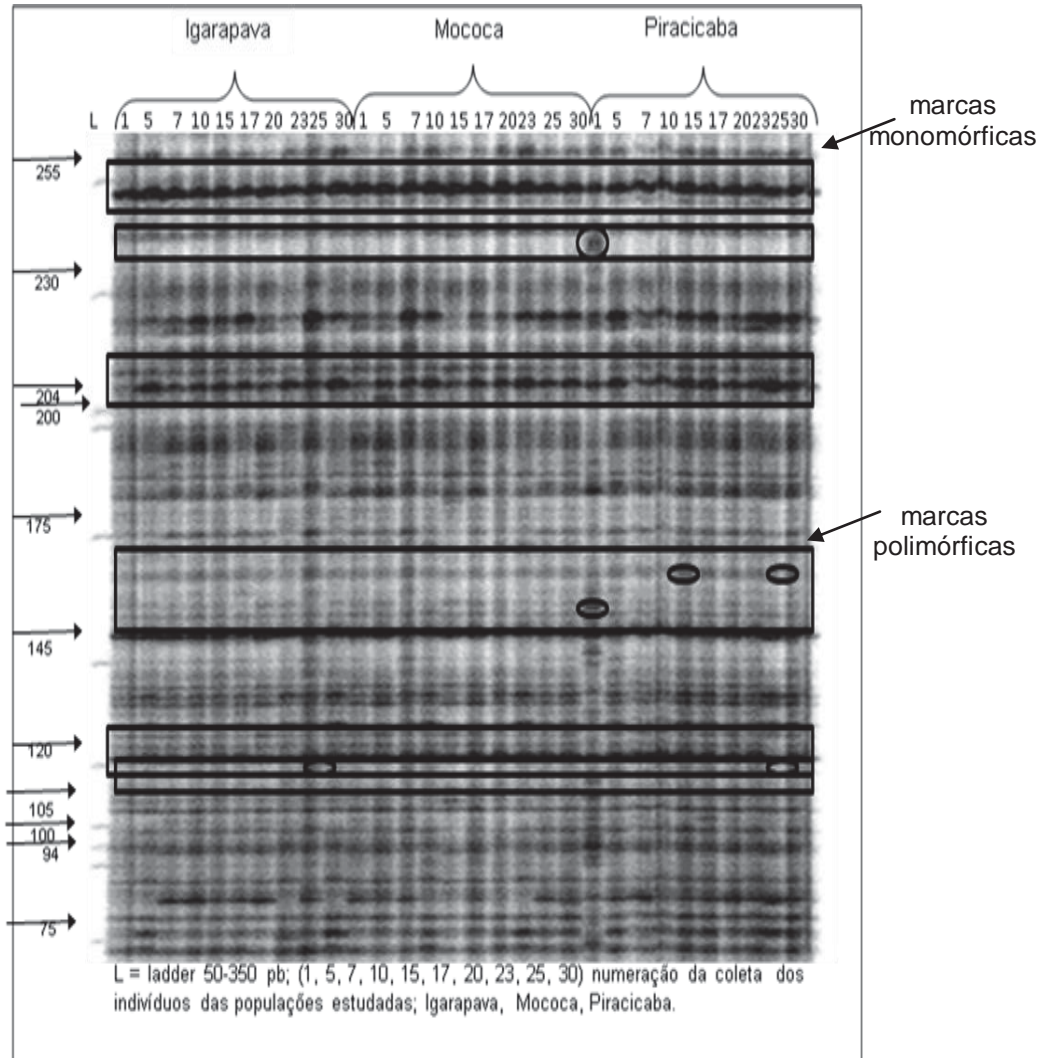
VIVIAN, R.; SILVA, A. A.; GIMENES, Jr., M.; FAGAN, E. B.; RUIZ, S. T.; LABONIA, V. Dormência em sementes de plantas daninhas como mecanismo de sobrevivência – breve revisão. **Planta Daninha**, v. 26, n. 3, p. 695-706, 2008.

VOS, P.; HOGERS, R.; MARJO BLEEKER, M.; REIJANS, M.; LEE, T. van de, HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v. 23, n. 21, 4407- 4414, 1995.

WINKLER, L. M.; VIDAL, R. A.; BARBOSA NETO, J. F. Caracterização genética de *Euphorbia heterophylla* resistente a herbicidas inibidores da aceto lactato sintase. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1067-1072, 2003.

WU, H.; QIANG, S.; PENG, G. Genetic diversity in *Veronica hederifolia* (Plantaginaceae) an invasive weed in China, assessed using AFLP markers. **Annales Botanici Fennici**, v. 47, p. 190-198, 2010.

Apêndice 1.



Produtos da amplificação com marcadores AFLP das populações de *Rottboellia cochinchinensis* com a combinação EcoRIACC/MspI ACT - Ribeirão Preto, 2015

Tabela 3a. Marcas isopolimórficas no conjunto dos 30 indivíduos de *Rottboellia cochinchinensis*. Ribeirão Preto - SP, 2015.

X1
X2 = X26 = X27
X3 = X4
X4 = X6 = X9 = X13 = X16 = X17 = X28 = X29 = X100 = X101
X5
X7 = X52 = X72 = X76 = X83
X8
X10 = X23 = X65 = X66 = X85
X11
X12 = X50
X14 = X39 = X40 = X49 = X61 = X86 = X94
X15
X16
X19 = X92
X20
X21 = X42
X22 = X12 = X53 = X85
X23 = X54 = X61 = X78 = X85 = X86 = X97
X24 = X38
X25 = X37 = X41 = X49 = X53 = X54 = X78 = X87 = X99
X27 = X47 = X84 = X92
X28 = X43 = X68 = X100 = X101
X30 = X32
X31 = X79
X33
X34
X35 = X30 = X68
X44
X45 = X95
X46
X48 = X70
X51
X55

Continuação....

Tabela 3a. Marcas isopolimórficas no conjunto dos 30 indivíduos de *Rottboellia cochinchinensis*. Ribeirão Preto - SP, 2015.

X56

X57 = X62 = X77

X58 = X74

X59

X60

X62 = X90 = X93

X63

X64

X69

X71

X73 = X85

X75 = X76

X77

X80 = X100

X81

X82 = X83

X88

X89 = X6

X91 = X95

X73 = X85

X75 = X76

X77

X80 = X100

X81

X82 = X83

X88

X89 = X6

X91 = X95

X – marca polimórfica

Capítulo 3 - Sensibilidade de diferentes populações de *Rottboellia cochinchinensis* a herbicidas

RESUMO - A pouca eficácia dos herbicidas sobre *Rottboellia cochinchinensis* possivelmente seja devida a existência de biótipos entre e dentro das diferentes populações infestantes de canaviais. Para verificar a hipótese objetivou-se estudar a sensibilidade de diferentes populações de *R. cochinchinensis* à herbicidas. Para isso, coletou-se sementes da espécie em três locais no Estado de São Paulo (Igarapava, Mococa e Piracicaba). Cada população originou um experimento instalado em vasos (20 L) alocados em ambiente aberto, dispostos em delineamento inteiramente casualizado com 9 tratamentos e quatro repetições, com testemunha adicional. As sementes foram semeadas na superfície (3 cm) de cada vaso preenchido com solo argiloso. Quando as plantas atingiram, aproximadamente, 2 cm de altura, foram aplicados os tratamentos T1- ametryn (3000 g ha⁻¹); T2- isoxaflutole (135 g ha⁻¹); T3- ametryn (300 g ha⁻¹)+isoxaflutole (135 g ha⁻¹); T4- isoxaflutole (135 g ha⁻¹)+clomazone (1200 g ha⁻¹); T5- amicarbazone (1400 g ha⁻¹); T6- ametryn (3000 g ha⁻¹)+trifloxysulfuron-sodium (22,5 g ha⁻¹); T7- glyphosate (2160 g ha⁻¹); T8- MSMA (2880 g ha⁻¹) e T9- ametryn (1500 g ha⁻¹)+clomazone (1000 g ha⁻¹). Foram avaliados aos 14, 30 e 60 dias após aplicação (DAA) a porcentagem de controle e aos 60 DAA a altura, número e massa seca das plantas. Concluiu-se que as populações proporcionaram semelhante sensibilidade aos herbicidas, apresentando controle satisfatório até aos 30 DAA, após o que ocorreu novo fluxo de emergência e recuperação das plantas com necessidade de nova aplicação. Os tratamentos proporcionaram número de plantas similar à testemunha, porém com altura e acúmulo de massa seca das plantas, menores.

Palavras-chave: herbicidas, plantas daninhas, *Saccharum* spp., seletividade

Chapter 3 – Itchgrass response to different herbicides

ABSTRACT - Herbicide ineffectiveness on *Rottboellia cochinchinensis* might be due to biotypes within and among different populations infesting sugarcane fields. To verify the hypothesis, we aimed to study the responses of different itchgrass populations (*R. cochinchinensis*) to various herbicides. Therefore, we sampled seed from three locations within São Paulo State (Igarapava, Mococa and Piracicaba). Each populations performed an experiment, which was set in 20-L pots and placed in an open environment. The experiment was performed in a completely randomized design with nine treatments and four replications, plus one control. Seeds were sown on the surface of each clayey soil (3 cm). When plants reached around 2 cm in height, the following treatments were applied ametryn (3,000 g ha⁻¹) – T1; isoxaflutole (135 g ha⁻¹) – T2; ametryn (300 g ha⁻¹)+isoxaflutole (135 g ha⁻¹) – T3; isoxaflutole (135 g ha⁻¹)+clomazone (1,200 g ha⁻¹) – T4; amicarbazone (1,400 g ha⁻¹) – T5; ametryn (3,000 g ha⁻¹)+trifloxysulfuron-sodium (22.5 g ha⁻¹) – T6; glyphosate (2,160 g ha⁻¹) – T7; MSMA (2,880 g ha⁻¹) – T8 and ametryn (1,500 g ha⁻¹)+clomazone (1,000 g ha⁻¹) T9. At 14, 30 and 60 days after application (DAA), control percentage was assessed and at 60 DAA, it was measured plant height, number and dry matter. It was concluded that populations have similar sensitiveness to the herbicides, under suitable control up to 30 DAA, when a new emergence flow had just started and plant recovery, being required another application. Treatments had plant number similar to control; however, height and dry matter accumulation were lower.

Key words: herbicides, weed, *Saccharum* spp., selectivity

Introdução

A espécie *Rottboellia cochinchinensis* é uma poaceae anual, nociva a diferentes culturas em regiões tropicais e subtropicais do mundo (ALLOUB, et al. 2005). Originária da Índia foi introduzida no Brasil, onde é mais frequente na região norte e menos presente no sudeste (KISSMANN, 1997).

Por estar distribuída mundialmente, a exposição às diferentes condições edafo-climáticas propiciam alterações em suas características anato-morfológicas e fisiológicas, resultando em novos biótipos (ZIMDAHL, 1993). Na Louisiana foram identificados dois biótipos (MILLHOLON, 1982), na Malásia três biótipos (ALLOUB, et al. 2005) com diferenças no florescimento e perfilhamento, nas Filipinas cinco biótipos diferenciados pela morfologia de sementes, dormência, florescimento, perfilhamento (adubação) e competição com a cultura do milho (PAMPLONA e MERCADO 1981a, 1981b) e no Brasil quatro biótipos com diferenças morfologia de de sementes, cascas, estômatos e número de cromossomos com comprimento menor (ALVES et al. 2003).

As alterações nas características anato-morfológicas ou fisiológicas nas plantas daninhas podem interferir na absorção do herbicida entre os biótipos, o que dificulta o controle químico. Nesse sentido, diferentes pesquisas sobre variabilidade genética em plantas daninhas têm sido realizadas, a exemplo de *Digitaria nuda* (VIEIRA et al., 2010), *Bidens pilosa* (VIDAL et al., 2005) e *Euphorbia heterophylla* (WINKLER et al., 2003).

Entretanto, independente do biótipo, o prejuízo às culturas é certo. A interferência de *R. cochinchinensis* em cana-de-açúcar, segundo ARÉVALO e BERTONCINI (1994), prejudicou a produtividade das soqueiras (80%) e da cana-planta (100%) no Brasil, LENCSE e GRIFFIN (1991) observaram prejuízos de 43% em cana-de-açúcar na Louisiana.

Seja pela pouca disponibilidade de herbicidas registrados (MAPA, 2015) ou pela presença de biótipos, há relatos de que produtores brasileiros vem encontrando dificuldade em controlar *R. cochinchinensis* em cana-de-açúcar.

Controles satisfatórios em pré-emergência foram obtidos com as associações de clomazone + imazapyr, clomazone + isoxaflutole e sulfometuron + diuron +

hexazinone (CORREIA e GOMES, 2014) e clomazone + imazapyr (CORREIA et al. 2013) em cana-de-açúcar. Em outros países controle inferior a 80% foram observados com a aplicação de pedimethalin (LABRADA, 1994), inferiores a 65% com diuron+hexazinone e inferiores a 50% com ametryn+atrazina (ESQUEDA, 1999).

Na pós-emergência, trifloxysulfuron-sodium + ametryn, sodium hydrogen methyl arsonate (MSMA) + diuron e diuron + paraquat proporcionaram controles satisfatórios quando aplicados sobre plantas com até seis a oito folhas (FREITAS et al., 2004). O uso de clomazone+ametryn controlou 87,5% população até aos 15 DAA, atingindo controle de 95% aos 90 DAA (ESQUEDA, 1999).

Calculado na premissa de que a espécie possui biótipos com respostas diferentes a um mesmo herbicida, sustentou-se a hipótese de que a dificuldade do controle químico observada pelos produtores é devida a existência de biótipos entre e dentro das diferentes populações infestantes de canaviais. Para verificar a hipótese objetivou-se estudar a sensibilidade de plantas de *R. cochinchinensis* de diferentes populações à herbicidas aplicados em pós-emergência das plantas.

Material e métodos

Previamente à instalação dos experimentos, coletou-se as sementes de *R. cochinchinensis* em áreas de produção comercial de cana-de-açúcar com histórico de presença da espécie e com baixa eficácia de controle químico, entre os meses de fevereiro a abril/2014. Os locais foram nos municípios de Igarapava, Mococa e Piracicaba, localizados no Estado de São Paulo, como observado na Figura 1.

Dentro de cada talhão de cana-de-açúcar, tomou-se pontos amostrais distanciados com aproximadamente 10 metros entre si. Nas populações em que foram observadas mais sementes sobre a superfície do solo, coletou-se dez pontos amostrais (Igarapava e Piracicaba) e nas populações com menor número de sementes sobre o solo, coletou-se em quinze pontos (Mococa). As sementes foram sempre coletadas no chão.

Em cada ponto, varreu-se a superfície do solo e o material coletado foi colocado em embalagens de papel. As amostras foram levadas ao laboratório,

peneiradas para retirar material estranho e as sementes homogeneizadas em um único lote.

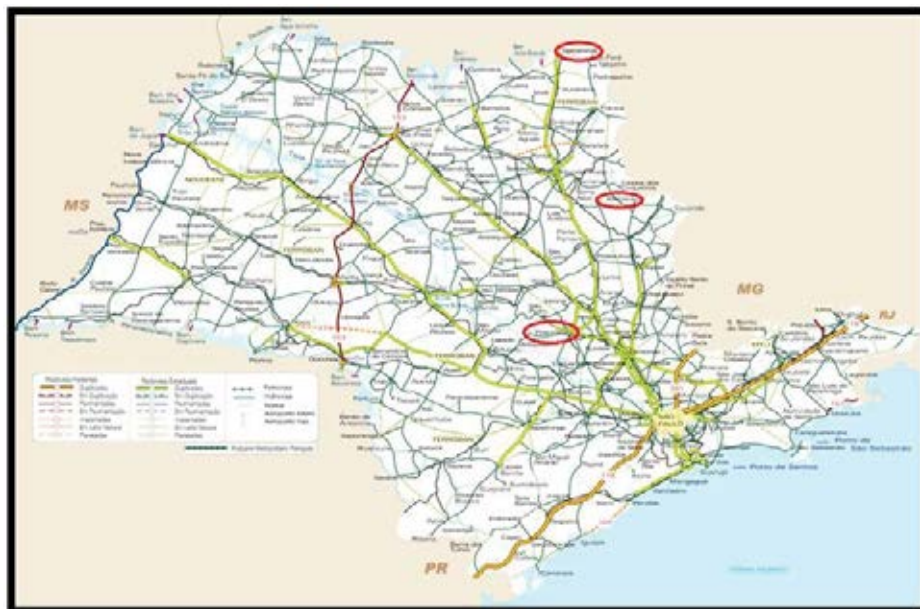


Figura 1. Localização das áreas no coleta município de Igarapava, Mococa e Piracicaba/SP.

Na sequência elaborou-se três experimentos, o primeiro experimento foi constituído por plantas oriundas de sementes coletadas no município de Igarapava, o segundo de Mococa e o terceiro de Piracicaba, SP. O período experimental ocorreu entre maio a set/2014 no município de Ribeirão Preto, SP, a 621 m de altura do nível do mar e $21^{\circ}12'28.29''$ de latitude Sul e $47^{\circ}52'23.30''$ de longitude Oeste. O clima é característico de verões quentes e úmidos e invernos secos e frios, considerado como tropical de altitude (Cwa), segundo a classificação de Köppen.

Os tratamentos herbicidas utilizados foram constituídos por diferentes produtos comerciais isolados ou por misturas e misturas prontas. Esses herbicidas constituíram os tratamentos que foram oriundos de suas associações diretos no equipamento costal pressurizado, as quais tiveram sua tolerância estudada para as plantas de *R. cochinchinensis*. As principais características dos herbicidas estudados foram obtidas nos registros de cada produto junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2015).

Cada experimento foi constituído em delineamento inteiramente casualizado com 9 tratamentos (Tabela 1) em quatro repetições. As parcelas foram constituídas por vasos de plásticos (20 L) alocados em ambiente aberto e mantidos com irrigação o suficiente para manter o desenvolvimento das plantas. Quando necessário os vasos foram irrigados com 10 milímetros (mm) de água, de modo que a dinâmica herbicida x solo não fosse prejudicada (Tabela 5).

Os vasos foram preenchidos com solo da camada arável de um Latossolo Vermelho de classe textural argilosa, cujas características químicas e físicas podem ser observadas na Tabela 2. Após preenchimento, os vasos foram adubados com o correspondente a 500 kg ha^{-1} de fertilizante da fórmula 04-14-08 para atender as necessidades nutricionais da cana-de-açúcar (SPIRONELLO et al., 1997).

Nas parcelas, a semeadura (21/05/2014) foi feita distribuindo-se 10 g de sementes (~1232 sementes/vaso) entre 2 a 5 cm de profundidade. A quantidade das sementes foi o suficiente para suprir a dormência e se obter plantas em número suficiente à aplicação dos tratamentos.

Após a emergência das plantas fez-se desbaste nos vasos deixando número variável de plantas, porém, sem o efeito da competição. Fez-se também adubação complementar com sulfato de amônio para estimular o crescimento das plantas com o correspondente a 40 kg ha^{-1} .

Tabela 1 – Tratamentos efetuados, ingrediente ativo, concentração e formulação, e doses (p.c. e i.a.) dos herbicidas utilizados no experimento, 2015.

Tratamentos	ingrediente ativo (i.a.)	Concentração (g kg ou L ⁻¹)	Formulação	Doses	
				(p.c. ha ⁻¹)	(i.a. ou e.a. ha ⁻¹)
T1	Metrimex	500 g L ⁻¹	Suspensão concentrada (SC)	6 L	3,0 kg
T2	Provence	750 g kg ⁻¹	Granulado dispersivo (GRDA)	180 g	135 g
T3	Metrimex	500 g L ⁻¹	Suspensão concentrada (SC)	6 L	3,0 kg
	Provence	750 g kg ⁻¹	Granulado dispersivo (GRDA)	180 g	135 g
T4	Provence	750 g kg ⁻¹	Granulado dispersivo (GRDA)	180 g	135 g
T5	Gamit star	800 g l ⁻¹	Concentrado emulsionável (CE)	1,5 L	1200 g
T6	Dinamic	700 g kg ⁻¹	Granulado dispersivo (GRDA)	2 kg	1400 g
T7	Metrimex	500 g L ⁻¹	Suspensão concentrada (SC)	6 L	3,0 kg
	Envoke	750 g kg ⁻¹	Grânulos dispersíveis (GRDA)	30 g	22,5 g
T8	Round up WG	720 g kg ⁻¹	Granulado dispersível (GRDA)	3 kg	360 g
	MSMA Sanachen	720 g L ⁻¹	Concentrado solúvel (SL)	4 L	2,88 Kg
T9	Sinerge	300 g L ⁻¹	Concentrado emulsionado (EC)	5 L	1,5+1,0 Kg
T10	Sem herbicida	---	---	---	---

p.c. – produto comercial; i.a. – ingrediente ativo; e.a. – equivalente ácido.

Tabela 2. Resultado da análise química do solo da área experimental, na profundidade de 0 a 20 cm, 2015.

Características analisadas	Valores
M.O. (g.dm ³)	12
pH (CaCl ₂)	6,0
P resina (mg.dm ³)	2
K (mmol _c .dm ³)	0,26
Ca (mmol _c .dm ³)	3,14
Mg (mmol _c .dm ³)	1,16
H+Al (mmol _c .dm ³)	12
Al (mmol _c .dm ³)	0,41
SB (mmol _c .dm ³)	4,56
CTC (mmol _c .dm ³)	16,56
V (%)	27,54
argila (g.kg ¹)	588
areia (g.kg ¹)	115
silte (g.kg ¹)	297

Análise realizada pelo laboratório DMLab

A aplicação dos herbicidas foi feita em condição de pós-emergência inicial das plantas (30/07/2014), quando apresentavam altura média de aproximadamente 2,25; 1,88 e 1,87 cm, respectivamente para as populações de Igarapava, Mococa e Piracicaba. O equipamento de pulverização utilizado foi um costal pressurizado (CO₂), equipado de barra com quatro bicos modelo TT 110.02 VS, espaçados de

0,50 m, que quando regulado a 30 psi de pressão, proporcionou volume de calda de 250 L ha⁻¹. A aplicação iniciou-se às 14:26h com término às 14:49h, durante a aplicação registrou-se temperatura do ar de 27,7°C, rajadas de vento entre 0,2 a 2,0 km h⁻¹ e 30% de nebulosidade.

Avaliou-se porcentagem de controle (%) aos 7, 14, 21, 30 e 60 dias após aplicação (DAA), atribuindo-se visualmente notas percentuais de eficácia a partir de uma escala percentual, de 0 a 100, sendo que 0% representa ausência de controle e 100% controle total pelos herbicidas. Para um efeito prático, utilizou-se ainda a escala proposta por ROLIM (1989), conforme Tabela 3.

Tabela 3. Escala de notas para avaliação da porcentagem de controle de plantas daninhas.

% controle	Avaliação
99,1 – 100,0	Excelente (E)
96,6 – 99,0	Muito bom (MB)
92,6 – 96,5	Bom (B)
85,1 – 92,5	Suficiente (S)
75,1 – 85,0	Duvidoso (D)
60,1 – 75,0	Insuficiente (I)
40,1 – 60,0	Mau (M)
15,1 – 40,0	Péssimo (P)
0,00 – 15,0	Sem efeito (SE)

Fonte: Rolim, 1989

Ao final, avaliou-se também a altura (cm) das plantas (60 DAA), medindo-se a distância do solo até a lígula da primeira folha completamente aberta de dez plantas escolhidas ao acaso. Também obteve-se o número de plantas e a massa seca da parte aérea das plantas, após o corte das plantas rente ao solo com posterior secagem em estufa de circulação forçada de ar a temperatura de 70°C até massa constante.

Os dados avaliados foram analisados por análise conjunta (Tabela 4), por ser preconizada para experimentos em grupos ou experimentos pequenos. Para comparação das médias utilizou-se o teste t a 5% de probabilidade, utilizando-se do software *Statistical Analysis System* – SAS, (2011).

Tabela 4. Esquema para análise de variância das variáveis avaliadas após aplicação dos herbicidas em condição de pós-emergência inicial, 2015.

Causas de variação	g.l.
Tratamentos químicos (herbicidas)	9-1
Planta daninha (população)	3-1
Planta daninha*Herbicidas	(3-1)*(9-1)
Resíduo	81
Total	n-1 = 107 (9*3*4)

De modo geral, observou-se temperaturas médias do ar próxima a média histórica, porém, a quantidade de chuva foi inferior (Tabela 5). O período experimental foi atípico, de modo que as precipitações foram distribuídas de forma irregular (Tabela 5).

Tabela 5. Dados de temperatura (°C) e precipitação (mm) no período experimental e a média histórica, 2015.

Mês	Chuvas (mm)			Temperatura média (°C)		
	histórico	Período Experimental	Irrigação (mm)	Total (mm)	histórico	Período Experimental
Mai	58,5	0,8	111,0	111,8	25,9	20,4
Jun	28,2	1,8	161,8	163,6	24,2	20,7
Jul	18,4	29,7	189,7	219,4	24,9	19,4
Ago	17,1	0,3	230,3	230,6	26,8	21,2
Set	66,2	70,6	390,0	460,6	23,1	24,3
Total	188,4	103,2	1082,8	1186	124,9	106

Fonte: IAC/CIAGRO

Resultados e Discussão

As avaliações de eficácia dos herbicidas iniciaram-se 60 dias após a semeadura (DAS) da espécie, onde as parcelas testemunhas apresentavam-se com no mínimo 60% da área coberta pela massa verde da planta daninha (Tabela 6 e Figura 2). Os percentuais de controle foram obtidos visualmente, observando-se a massa vegetal que a espécie ocupava na área útil de cada parcela (vasos), de acordo com a escala proposta por ROLIM (1989).

Tabela 6. Caracterização inicial e final do ensaio, no tratamento testemunha, 2015.

População	% cobertura		número de plantas (m ⁻²)	massa seca (g)
	0 DAA	30 DAA	60 DAA	60 DAA
IGARAPAVA (população 1)	60	~100	47	22,16
MOCOCA (população 2)	60	~100	42	11,35
PIRACICABA (população 3)	60	~100	51	8,74

DAA - dias após aplicação



DAA - dias após a aplicação dos herbicidas.

Figura 2. Vasos testemunhas no dia da aplicação dos tratamentos – Ribeirão Preto, 2015.

Assim, a eficácia no controle de *R. cochinchinensis* começou a ser visualizada aos 14 DAA quando os tratamentos apresentavam médias de porcentagem de controle superiores a 80% nas diferentes populações (Tabela 7). Pode-se observar nessa avaliação, que os herbicidas isoxaflutole (750 g ha⁻¹) e MSMA (790 g ha⁻¹) foram os que apresentaram as menores médias de controle, 5 e 65%, respectivamente, (Tabela 7).

Tabela 7. Sensibilidade das populações de *Rottboellia cochinchinensis* aos diferentes herbicidas, aplicados em pós-emergência, 2015.

	Tratamentos	% controle			
		14 DAA	21 DAA	30 DAA	60 DAA
Igarapava (população 01)	ametryn (300 g ha ⁻¹)	82,92 def	88,75 def	93,75 a	64,17 defghi
	isoxaflutole (750 g ha ⁻¹)	5,00 i	52,50 k	25,00 e	35,92 lm
	ametryn+isoxaflutole (500 g ha ⁻¹)+(750 g ha ⁻¹)	95,00 ab	100,00 a	98,75 a	75,00 abcdef
	isoxaflutole+clomazone (750 g ha ⁻¹)+(360 g ha ⁻¹)	92,50 abc	98,25 abc	91,25 a	91,25 ab
	amicarbazone (750 g ha ⁻¹)	93,75 ab	97,50 abc	96,25 a	92,50 a
	ametryn+trifloxyulfuron-sodium (500 g ha ⁻¹)+(750 g ha ⁻¹)	97,50 a	98,75 ab	93,75 a	75,00 abcdef
	glyphosate (720 g ha ⁻¹)	81,25 ef	85,00 fg	60,00 c	40,84 jklm
	MSMA (790 g ha ⁻¹)	65,00 h	62,50 j	27,50 e	65,00 defgh
	ametryn+clomazone (300 g ha ⁻¹)+(200 g ha ⁻¹)	97,50 a	99,58 ab	95,00 a	82,51 abcd
Mococa (população 02)	ametryn (300 g ha ⁻¹)	88,75 bcde	91,25 bcdef	95,00 a	69,17 cdefg
	isoxaflutole (750 g ha ⁻¹)	5,00 i	63,75 j	30,00 e	51,67 ghijkl
	ametryn+isoxaflutole (500 g ha ⁻¹)+(750 g ha ⁻¹)	95,00 ab	95,00 abcde	97,50 a	40,00 klm
	isoxaflutole+clomazone (750 g ha ⁻¹)+(360 g ha ⁻¹)	80,00 fg	93,33 abcdef	95,00 a	82,50 abcd
	amicarbazone (750 g ha ⁻¹)	85,00 cdef	96,25 abcd	98,75 a	85,00 abc
	ametryn+trifloxyulfuron-sodium (500 g ha ⁻¹)+(750 g ha ⁻¹)	96,25 ab	98,75 ab	100,00 a	57,50 fghijk
	glyphosate (720 g ha ⁻¹)	95,83 ab	87,50 ef	72,50 b	45,00 ijklm
	MSMA (790 g ha ⁻¹)	72,50 gh	73,33 hi	71,25 b	46,67 hijklm
	ametryn+clomazone (300 g ha ⁻¹)+(200 g ha ⁻¹)	92,50 abc	92,50 abcdef	92,50 a	63,34 defghi
Piracicaba (população 03)	ametryn (300 g ha ⁻¹)	90,00 abcd	93,75 abcde	91,25 a	62,50 efghi
	isoxaflutole (750 g ha ⁻¹)	5,00 i	50,00 k	40,00 d	48,34 hijklm
	ametryn+isoxaflutole (500 g ha ⁻¹)+(750 g ha ⁻¹)	95,00 ab	98,75 ab	100,00 a	30,00 m
	isoxaflutole+clomazone (750 g ha ⁻¹)+(360 g ha ⁻¹)	70,00 h	90,00 cdef	100,00 a	60,00 fghij
	amicarbazone (750 g ha ⁻¹)	91,25 abc	95,83 abcde	100,00 a	81,67 abcde
	ametryn+trifloxyulfuron-sodium (500 g ha ⁻¹)+(750 g ha ⁻¹)	93,75 ab	97,92 abc	98,75 a	64,17 defghi
	glyphosate (720 g ha ⁻¹)	85,00 cdef	77,50 gh	70,00 b	38,34 klm
	MSMA (790 g ha ⁻¹)	65,00 h	67,50 ij	77,50 b	49,17 hijklm
	ametryn+clomazone (300 g ha ⁻¹)+(200 g ha ⁻¹)	90,83 abcd	93,75 abcde	100,00 a	72,50 bcdef
F (população)	2,83 ^{ns}	2,23 ^{ns}	23,67 ^{**}	8,42 ^{**}	
F (trat)	308,39 ^{**}	75,80 ^{**}	146,41 ^{**}	15,73 ^{**}	
F (população*trat)	3,59 ^{**}	1,85 [*]	6,63 ^{**}	2,20 [*]	
Dms	2,66	2,84	3,21	6,39	
CV	7,27	6,99	8,36	22,04	

* Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si. DAA (dias após aplicação); * (significativo a 5% de probabilidade pelo teste F); ** (significativo a 1% de probabilidade pelo teste F); ns (não significativo); dms (diferença mínima significativa); CV (coeficiente de variação); dados médios de 4 repetições.

CORREIA et al. (2013) observaram aos 14 DAA que no solo sem palha ocorreu menor densidade de plantas de capim-camalote com aplicação de flumioxazina e clomazona quando comparado com outros herbicidas, sendo um deles isoxaflutole, corroborando com os resultados deste trabalho.

Aos 14 DAA foi observado controle satisfatório com entre os tratamentos utilizados, destacando-se os tratamentos ametryn+isoxaflutole (500 g ha^{-1})+(750 g ha^{-1}), ametryn+trifloxyulfuron-sodium (500 g ha^{-1})+(750 g ha^{-1}) e clomazone+ametryn (300 g ha^{-1})+(200 g ha^{-1}), com médias de 95,00; 97,50 e 97,50% de porcentagem de controle da espécie respectivamente, para Igarapava. Para a população Mococa as melhores médias de porcentagem de controle foram observadas com os tratamentos composto pelos herbicidas ametryn+isoxaflutole (500 g ha^{-1})+(750 g ha^{-1}), ametryn+trifloxyulfuron-sodium (500 g ha^{-1})+(750 g ha^{-1}), glyphosate (720 g ha^{-1}) e clomazone+ametryn (300 g ha^{-1})+(200 g ha^{-1}), com 95,00; 96,25; 95,83 e 92,50%, respectivamente. Em Piracicaba a combinação de ametryn+isoxaflutole (500 g ha^{-1})+(750 g ha^{-1}) foi a que proporcionou melhor média de controle para a espécie, com 95,00%, igual ao observado com Igarapava. Nessa população foi observado controle similar com o ametryn+trifloxyulfuron-sodium (500 g ha^{-1})+(750 g ha^{-1}) 93,75% (Tabela 7).

Pela escala de porcentagem de controle (Tabela 3) observou-se que as médias de controle aos 14 DAA nas diferentes populações foram de controle muito bom (MB) com essas combinações de herbicidas. Também foi observado injúrias com sintomas de clorose e necrose na extremidade das folhas. Segundo, RODRIGUES e ALMEIDA (2011) esses herbicidas podem causar esses sintomas nas folhas de plantas daninhas e culturas.

FREITAS et al. (2004) ao estudarem o controle de *R. cochinchinensis* observaram resultados de controle acima de 90% aos 22 e aos 88 DAA, com trifloxysulfuron-sodium+ametryn ($37+1,465 \text{ g ha}^{-1}$), MSMA+diuron ($2,88+1,12 \text{ kg ha}^{-1}$) e diuron+paraquat ($300+600 \text{ g ha}^{-1}$), respectivamente. Os autores ainda relataram que os resultados alcançados com trifloxysulfuron-sodium+ametryn ($37+ 1,465 \text{ g ha}^{-1}$) assemelham-se aos encontrados por MORENO (1996) que observou excelente controle de *R. cochinchinensis* ao se utilizar de herbicidas do grupo químico das sulfoniluréias.

Pode-se observar que o controle pelos herbicidas estudados com as diferentes populações da espécie foi crescente em relação à porcentagem de cobertura aos 14 DAA; pois, com a avaliação de 21 DAA, observou-se que as médias para o controle foram estatisticamente superiores, ou semelhantes às de 14 DAA (Tabela 7). No entanto, os sintomas de fitointoxicação observado nas plantas foram de necrose e pontos cloróticos nas folhas. Mesmo com as plantas apresentando sintomas de fitointoxicação, não foi possível obter controle satisfatório para a espécie, pela escala proposta por ROLIM (1989), com ametryn (300 g ha^{-1}) e glyphosate (720 g ha^{-1}) com as populações de Igarapava e Mococa; e somente glyphosate (720 g ha^{-1}) para população de Piracicaba aos 21 DAA (Tabela 7).

Aos 30 DAA observou-se que o tratamento composto por ametryn+isoxaflutole (500 g ha^{-1})+(750 g ha^{-1}) nas populações de Igarapava e Mococa apresentaram porcentagem de controle excelente (E) e muito bom (MB), respectivamente, de acordo com a escala proposta por ROLIM (1989). Enquanto a população dos municípios de Mococa e Piracicaba as melhores médias de controle, foram observadas com o uso de ametryn+trifloxyulfuron-sodium (500 g ha^{-1})+(750 g ha^{-1}), Figura 3.

Pela Tabela 7, ainda observa-se aos 30 DAA que a aplicação dos herbicidas ametryn+isoxaflutole (500 g ha^{-1})+(750 g ha^{-1}); isoxaflutole+clomazone (750 g ha^{-1})+(360 g ha^{-1}); amicarbazone (750 g ha^{-1}) e clomazone+ametryn (300 g ha^{-1})+(200 g ha^{-1}) resultou em 100% de controle na população de Piracicaba. Os herbicidas glyphosate (720 g ha^{-1}) e MSMA (790 g ha^{-1}) promoveram controle intermediário para as populações de Mococa e Piracicaba, com médias de (72,50 e 71,25%) e (70,00 e 77,50%), respectivamente, (Figura 3).

Mesmo com a espécie apresentando diferentes fluxos de emergência e sementes dormentes, respostas próximas a 100% de controle são significativas. Após esse período, os produtores devem realizar o planejamento de manejo nas áreas.

Há relatos que a palha da colheita da cana-de-açúcar influencia a germinação das sementes de capim-camalote. CORREIA et al. (2013) ao estudar a germinação da espécie influenciada pela profundidade da sementeira, quantidade de palha e uso de herbicidas residual observaram que 5, 10 e 15 t ha^{-1} de palha combinado com o

herbicida clomazone apresentou resultados mais eficaz no controle do que com o uso de isoxaflutole combinado com 10 t ha⁻¹ de palha.

Nesse trabalho observou-se que com aplicação de isoxaflutole (750 g ha⁻¹) não obteve-se resposta eficaz, no entanto, quando em mistura com outros herbicidas, esse apresentou um bom controle.

STRAHAN et al. (2000) ao estudar a identificação e o controle de *R. cochinchinensis*, cultura do milho, observaram que os herbicidas com base nas triazinas (atrazinas e metribuzinas) não apresentaram respostas eficazes de controle. FREITAS et al. (2004) observou controle eficiente da espécie com aplicação de herbicidas do grupo das sulfoniluréias, quando comparado com a capina manual. Assim, é válido observar que a eficácia promovida pelos herbicidas é variável e dependente das condições ambientais (aplicação), da época de aplicação (pré ou pós-emergência) e da espécie a ser controlada (MEROTTO Jr. e VIDAL, 2001).

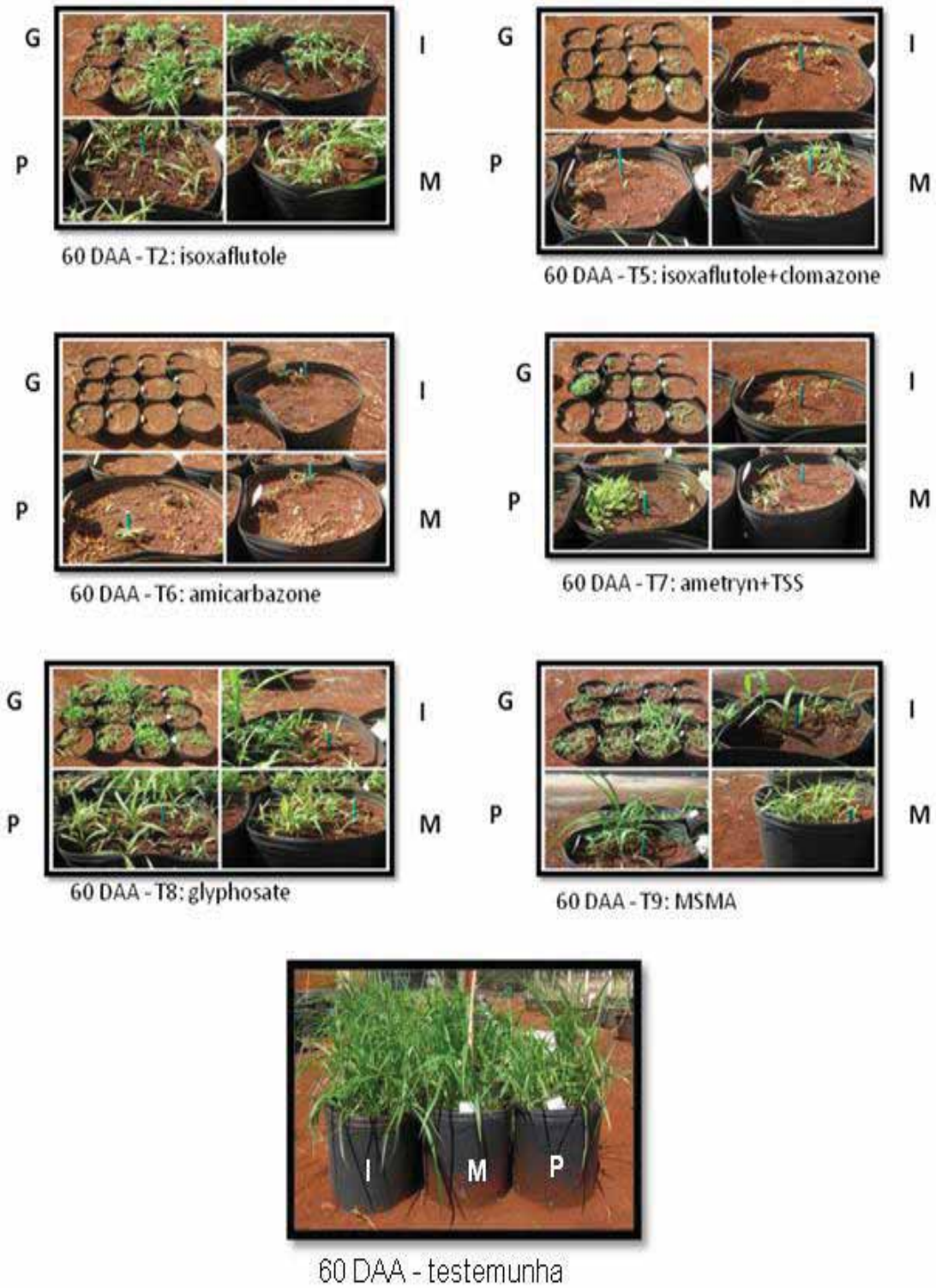


Figura 3. Vasos testemunha e tratamentos aos 30 dias após aplicação (DAA) dos herbicidas - Ribeirão Preto, 2015.

Aos 60 DAA foram observados 92,50 e 91,25% de controle com a aplicação de isoxaflutole+clomazone (750 g ha^{-1})+(360 g ha^{-1}) e amicarbazone (750 g ha^{-1}), população de Igarapava. Nas populações de Mococa e Piracicaba, as médias de controle foram inferiores, não promovendo controle suficiente (S), de acordo com ROLIM (1989), Tabela 3 e Figura 4.

Segundo MILLHOLLON e BURNER (1993), o modo de reprodução da espécie (preferencialmente autógama) pode ter reduzido o fluxo gênico entre as populações de capim-camalote. Assim, em áreas onde há a ocorrência dessa planta daninha é necessário a realização do manejo planejado, baseando-se nos conhecimentos da biologia da planta. Assim, se o produtor obtiver controle igual ou superior a 90% em sua lavoura, ele terá aumento de produtividade.

Essa porcentagem de variabilidade é considerada baixa. Devido à variabilidade genética baixa, sugere-se que ocorra fluxo gênico na mesma população. Assim, deverá ocorrer sensibilidade similar ao uso desses herbicidas entre as populações.



G - Geral, I - Igarapava, M - Mococa, P – Piracicaba

Figura 4. Vasos testemunha e tratamentos aos 60 dias após a aplicação (DAA) dos herbicidas – Ribeirão Preto, 2015.

Na Tabela 8, estão apresentados o número de plantas, a altura e a massa seca das plantas aos 60 dias após a aplicação dos herbicidas (DAA). A fonte de variação da interação população x herbicida nas parcelas não foi significativa, podendo ser explicado pelo comportamento da espécie, pois ocorreu um novo fluxo de germinação, o qual foi constante, nas três populações, após os 30 DAA (dias após a aplicação) dos herbicidas (Tabela 8).

Houve interação entre herbicidas e espécie das diferentes populações de *R. cochinchinensis* aos 60 DAA, para as variáveis altura e massa seca da plantas (Tabela 8).

Analisando dentro de cada população (Igarapava, Mococa e Piracicaba) observou-se que o herbicida isoxaflutole (750 g ha^{-1}) foi o menos prejudicial para população de Igarapava, pois foi o que apresentou o maior número de plantas (Tabela 8). Enquanto que com a população de Mococa e Piracicaba, isso foi observado com a aplicação de glyphosate (720 g ha^{-1}). A população de Mococa ainda não sofreu influência com a aplicação do herbicida MSMA. Isso pode ser justificado devido ao novo fluxo de emergência da espécie, pois as sementes de capim-camalote podem apresentar período de dormência de até quatro anos HESLOP-HARRISON (1959). Isso também pode ser consequência da variabilidade genética encontrada na espécie (22%) com o uso do marcador AFLP, ou seja, há biótipos dessa espécie nas populações estudadas.

Entretanto, com o uso do amicarbazone, pode-se observar o menor número de plantas de capim-camalote nas três populações. Isso era esperado devido, esse herbicida ter apresentado um bom controle para a espécie em todas as datas de avaliação (Tabela 8). A mistura de isoxaflutole+clomazone (750 g ha^{-1})+(360 g ha^{-1}) também apresentou baixa média para número de plantas, devido essa combinação de produtos também ter apresentado bom controle, com menor intensidade para a população de Piracicaba.

Ao se aferir a altura das 10 plantas mais desenvolvidas (60 DAA), pode-se observar estatisticamente (Tabela 8) que o melhor desenvolvimento das plantas foi com as testemunhas de cada população, sem aplicação dos herbicidas.

Observou-se também que com o tratamento amicarbazone (750 g ha^{-1}) ocorreram as menores médias de altura nas populações estudadas (Tabela 8).

Com os valores médios de massa seca da parte aérea (MSPA) (Tabela 7) observou-se, que apenas as testemunhas de cada população diferiram-se estatisticamente. No entanto, com a população de Mococa, observou-se os maiores valores médios para MSPA e as menores alturas, o que pode ser explicado pela germinação esporádica das sementes. De acordo com BRIDGEMOHAN e BRATHWAITE (1991) as sementes de capim camalote podem permanecer viáveis no solo a 45 centímetros (cm) de profundidade.

Assim como para altura, com a aplicação de amicarbazone (750 g ha^{-1}) foi observada às menores médias para MSPA da espécie nas três populações (Igarapava, Mococa e Piracicaba). Na Louisiana, os herbicidas registrados para controle dessa espécie são tryfluralin incorporado no solo, em pré-emergência da cana-de-açúcar, e o asulam em pós-emergência para reduzir a concorrência da planta daninha com a cultura e incentivar perfilhamento da cana-de-açúcar LENCSE e GRIFFIN, (1991).

LENCSE e GRIFFIN (1992) ao estudar a interferência de *R. cochinchinensis* em Maringouin e Thibodaux – Louisiana, observaram que a espécie não reduziu a altura da cultura da cana-de-açúcar, com uso de asulam e nicosulfuron.

Essa espécie é classificada como planta daninha problema nas culturas de soja, milho, algodão, amendoim, arroz, dentre outras, em regiões tropicais do mundo (HOLM et al., 1977). No Brasil é considerada uma das 12 piores espécies para o controle na cana-de-açúcar (ALVES et al., 2003).

Devido sua prolificidade e o difícil controle, essa também é considerada uma planta daninha importante na Venezuela e em diversos países, na cultura do milho, com redução de até 80% na produtividade (ANZALONE et al., 2006).

Na Louisiana, a presença dessa espécie ocasiona grandes perdas em produtividade nas culturas da cana-de-açúcar, soja, milho (MILLHOLLON, 1965).

Tabela 8. Altura, número de plantas e massa seca e *Rottboellia cochinchinensis* por diferentes herbicidas utilizados, aplicado em pós-emergência, 2015.

	Tratamentos	Altura	Número de plantas (m ⁻²)	Massa seca (g)
		60 DAA	60 DAA	60 DAA
Igarapava (população 01)	ametryn (300 g ha ⁻¹)	3,61def	26,00 defghi	1,91 cd
	isoxaflutole (750 g ha ⁻¹)	3,21 defg	70,00 abc	2,13 cd
	ametryn+isoxaflutole (500 g ha ⁻¹)+(750 g ha ⁻¹)	1,54 efghij	16,00 fghi	0,14 d
	isoxaflutole+clomazone (750 g ha ⁻¹)+(360 g ha ⁻¹)	0,98 hij	7,75 hi	0,04 d
	amicarbazone (750 g ha ⁻¹)	0,74 j	4,50 i	0,04 d
	ametryn+trifloxyulfuron-sodium (500 g ha ⁻¹)+(750 g ha ⁻¹)	3,06 defghi	17,00 fghi	0,31 d
	glyphosate (720 g ha ⁻¹)	4,45 d	52,00 bcd	4,69 c
	MSMA (790 g ha ⁻¹)	2,49 defghij	25,50 defghi	0,88 d
	ametryn+clomazone (300 g ha ⁻¹)+(200 g ha ⁻¹)	2,27 defgij	19,25 efghi	0,44 d
Testemunha	21,15 a	47,25 bcdef	22,16 a	
Mococa (população 02)	ametryn (300 g ha ⁻¹)	1,56 efghij	20,50 defghi	1,07 cd
	isoxaflutole (750 g ha ⁻¹)	3,09 defgh	33,00 defghi	1,92 cd
	ametryn+isoxaflutole (500 g ha ⁻¹)+(750 g ha ⁻¹)	1,93 efghij	43,00 bcdefg	0,53 d
	isoxaflutole+clomazone (750 g ha ⁻¹)+(360 g ha ⁻¹)	1,03 ghij	18,75 efghi	0,11 d
	amicarbazone (750 g ha ⁻¹)	0,89 hij	20,50 defghi	0,04 d
	ametryn+trifloxyulfuron-sodium (500 g ha ⁻¹)+(750 g ha ⁻¹)	1,69 efghij	50,00 bcde	1,66 cd
	glyphosate (720 g ha ⁻¹)	3,00 defghi	74,00 ab	2,72 cd
	MSMA (790 g ha ⁻¹)	2,90 defghij	84,50 a	3,50 cd
	ametryn+clomazone (300 g ha ⁻¹)+(200 g ha ⁻¹)	2,04 efghij	41,50 cdefg	1,04 cd
Testemunha	10,85 b	42,75 bcdefg	11,35 b	
Piracicaba (população 03)	ametryn (300 g ha ⁻¹)	1,68 efghij	39,50 cdefg	1,14 cd
	isoxaflutole (750 g ha ⁻¹)	3,71 de	39,25 cdefgh	3,20 cd
	ametryn+isoxaflutole (500 g ha ⁻¹)+(750 g ha ⁻¹)	1,54 efghij	25,75 defghi	0,23 d
	isoxaflutole+clomazone (750 g ha ⁻¹)+(360 g ha ⁻¹)	1,33 ghij	31,75 defghi	0,32 d
	amicarbazone (750 g ha ⁻¹)	0,89 ij	13,00 hii	0,03 d
	ametryn+trifloxyulfuron-sodium (500 g ha ⁻¹)+(750 g ha ⁻¹)	1,47 fghij	35,50 defghi	0,63 d
	glyphosate (720 g ha ⁻¹)	2,48 defghi	68,00 abc	2,12 cd
	MSMA (790 g ha ⁻¹)	3,61 def	38,75 cdefgh	2,79 cd
	ametryn+clomazone (300 g ha ⁻¹)+(200 g ha ⁻¹)	2,08 efghij	22,75 defghi	0,53 d
testemunha	7,95 c	51,50 bcd	8,74 b	
F (população)	13,50 **	4,10 *	2,47 ^{ns}	
F (trat)	63,43 **	6,00 **	29,66 **	
F (população*trat)	7,86 **	1,67 ^{ns}	3,20 **	
dms	0,70	9,97	1,19	
CV	47,41	62,37	104,81	

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si. DAA (dias após aplicação); * (significativo a 5% de probabilidade pelo teste F); ** (significativo a 1% de probabilidade pelo teste F); ns (não significativo); dms (diferença mínima significativa); CV (coeficiente de variação); dados médios de 4 repetições.

Conclusão

Concluiu-se que as populações proporcionaram semelhante sensibilidade aos herbicidas, apresentando controle satisfatório até aos 30 DAA, após ocorreu novo fluxo de emergência e recuperação das plantas com necessidade de nova aplicação. Os tratamentos proporcionaram no final número de plantas similar à testemunha, porém, com altura e acúmulo de massa seca das plantas, menores.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo; ao Pólo Regional Nordeste Paulista – Mococa e ao Pólo Regional Centro Sul - Piracicaba, pela concessão do material para a realização desse trabalho.

Referências bibliográficas

ALLOUB, H.; JURAIMI, A. S.; RAJAN, A.; KADIR, J.; SAAD, M. S.; SASTROUTOMO, S. Growth behavior of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) in peninsular Malaysia. **Weed Biology and Management**, v. 5, p. 8–13, 2005.

ALVES, P. L. C. A.; BACHEGA, M. F.; MORO, J. R.; LEMOS, M. V. F.; ALVES, E. C. C.; SILVA, M. A. S.; MORO, F. V. Identification and characterization of different accessions of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*). **Weed Science**, v. 51, n. 2, p. 177-180, 2003.

ANZALONE, A.; GÁMEZ, A. E MELÉNDEZ, L. Evaluación de la interferencia de *Rottboellia cochinchinensis* sobre el maíz (*Zea mays* L.) através de un método aditivo. **Revista de la Facultad de Agronomía**, v. 23, p. 373-383, 2006.

ARÉVALO, R. A.; BERTONCINI, E. I. Biologia e manejo de *Rottboellia exaltata* na cultura da cana-de-açúcar *Saccharum* spp.: análise do problema. Piracicaba: Estação Experimental de cana-de-açúcar- IAC, p. 24, 1994.

BRIDGEMOHAN, P.; BRATHWAITE, R. A. I.; MCDAVID, C. R. Seed survival and patterns of seedling emergence studies of *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton in cultivated soils. **Weed Research**, v. 31, n. 5, p. 265–272, 1991.

CORREIA, N. M.; GOMES, L. J. P. Seed bank and control of *Rottboellia exaltata* using clomazone alone and in combination with other herbicides. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 4, p. 538-544, 2014.

CORREIA, N. M.; GOMES, L. P.; PERUSSI, F. J. Emergence of *Rottboellia exaltata* influenced by sowing depth, amount of sugar cane straw on the soil surface, and residual herbicide use. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 35, n. 2, p. 145-152, 2013.

ESQUEDA, A. Control de malezas en caña de azúcar con clomazone y ametrina. **Agronomía mesoamericana**, v. 10, n. 2, p. 23-30, 1999.

FREITAS, S. P.; OLIVEIRA, A. R.; FREITAS, S. J.; SOARES, L. M. S. Controle químico de *Rottboellia exaltata* em cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v. 22, n. 3, p. 461-466, 2004.

HESLOP-HARRISON, J. Photoperiod and Fertility in *Rottboellia exaltata* L.f. **Annal of Botany**, v. 23, p. 345-349, 1959.

HOLM, L. G.; PLUCKNETT, D. L.; PANCHO, J. V.; HERBERGER, J. P. The Worlds Worst Weeds, Distribution and Biology. **Honolulu**, p. 609, 1977.

IAC CIIAGRO: Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas. **Quadro de temperatura mensal.** Disponível em: <http:

www.ciiagro.sp.gov.br/ciiagroonline/Quadros/qTmedPeriodo.asp.com.br. Acesso em: 10 jan. 2015b.

IAC CIIAGRO: Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas: **Quadro de chuva mensal**. Disponível em: <<http://www.ciiagro.sp.gov.br/ciiagroonline/Quadros/QChuvaPeriodo.asp.com.br>>. Acesso em: 10 jan. 2015a.

KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**, 2. ed, 1997.

LABRADA, R. *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) Clayton. En: Labrada, R., Caseley, C. e Parker, C. eds. Weed management for developing countries. **FAO Plant Production and Protection Paper**, p. 74-77, 1994.

LENCSE, R. J.; GRIFFIN, J. L.; RICHARD, E. P., Jr. Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) control in sugarcane with post emergence herbicides. **Journal American Society of Sugar Cane Technologists**, v. 12, p. 9-15, 1992.

LENCSE, R. J.; GRIFFIN, J. L. Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) Interference in Sugarcane (*Saccharum* spp.). **Weed Technology**, v. 5, n. 2, p. 396-399, 1991.

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://www.extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_const.com.br>. Acesso em: 15 jan. 2015.

MEROTTO Jr, A.; VIDAL, R. A. Herbicidas inibidores de PROTOX. **Herbicidologia**, p. 69-86, 2001.

MILLHOLLON, R. W.; BURNER, D. M. Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) Biotypes in World Populations. **Weed Science**, v. 41, n. 3, p. 379-387, 1993.

MILLHOLON, R. W. Reproduction variability in biotypes of Johnsongrass (*Sorghum halpenese*) and itchgrass (*Rottboellia exaltata*). **Weed Science**, v. 22, p. 74, 1982.

MILLHOLLON, R. W. Growth characteristics and control of *Rottboellia exaltata* L.f., a new weed in sugarcane. **Sugar Bull**, p. 82-88, 1965.

MORENO, B. Efecto de varios herbicidas sobre el control de malezas em maíz (*Zea mays* L.) y su persistência en el suelo. 1996. 152 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidad Central de Venezuela, 1996.

PAMPLONA, P. P.; MERCADO, B. L. Ecotypes of *Rottboellia exaltata* in the Philippines II. Response to day length and nitrogen application. **Phil Agriculture**, v. 64, p. 371-378, 1981b.

PAMPLONA, P. P.; MERCADO, B. L. Ecotypes of *Rottboellia exaltata* in the Philippines I. Characteristics and dormancy of seeds. **Phil Agriculture**, v. 64, p. 59-66, 1981a.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 6 ed. Londrina: p. 697, 2011.

ROLIM, J. C. Proposta de utilização da escala EWRC modificada em ensaios de campo com herbicidas. **IAA/PLANALSUCAR**. Coordenadoria Regional Sul, p. 3, 1989. (Não Publicado).

SAS - Institute Inc. SAS/STAT 9.3. User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2011.

SPIRONELLO, A.; RAIJ, B. van; PENATTI, C. P.; CANTARELLA, H.; MORELLI, J. L.; ORLANDO FILHO, J.; LANDELL, M. G. A.; ROSSETO, R. Outras culturas industriais. In: RAIJ, B. van.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M.C., coords. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São**

Paulo. 2.ed. Campinas, Instituto Agronômico de Campinas, (Boletim Técnico, 100), p. 237-239, 1997.

STRAHAN, R. E.; GRIFFIN, J. L.; JORDAN, D. L.; MILLER, D. K. Influence of Adjuvants on Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) Control in Corn (*Zea mays*) with Nicosulfuron and Primisulfuron. **Weed Technology**, v. 14, p. 66-71, 2000.

VIDAL, R. A.; LAMEGO, F. P.; RESENDE, L. V.; SILVA, P. R.; DELATORRE, C. A.; TREZZI, M. M. Similaridade genética entre acessos de *Bidens pilosa* resistentes aos herbicidas inibidores da ALS. **Planta Daninha**, v. 23, n. 3, p. 551-556, 2005.

VIEIRA, V. C.; ALVES, P. L. C. A.; PICCHI, S. C.; LEMOS, M. V. F.; SENA, J. A. D. Molecular characterization of accessions of crab grass (*Digitaria nuda*) and response to ametryn. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, n. 2, p. 255-261, 2010.

WINKLER, L. M.; VIDAL, R. A.; BARBOSA NETO, J. F. Caracterização genética de *Euphorbia heterophylla* resistente a herbicidas inibidores da aceto lactato sintase. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1067-1072, 2003.

ZIMDAHL, R. L. Fundamentals of Weed Science. Academic Press, **Weed Ecology**, p. 91-108, 1993.

Capítulo 4: Caracterização citogenética de *Rottboellia cochinchinensis* em duas regiões do Estado de São Paulo

RESUMO - Considerando as dificuldades de manejo encontradas no controle da espécie *Rottboellia cochinchinensis* que podem estar associada ao polimorfismo presente na espécie, elaborou-se a hipótese de que a dificuldade do controle químico observada pelos produtores pode ser devida a existência de biótipos entre e dentro das diferentes populações infestantes de canaviais. Para verificar a hipótese objetivou-se estudar o número cromossômico de duas populações de capim-camalote, presentes na cultura da cana-de-açúcar, no Estado de São Paulo. Para determinação do número de cromossomos, as sementes foram colocadas para germinar em caixas gerbox com papel filtro e sempre que necessário houve aplicação de nistatina para controle de microrganismos. As radículas com 3 cm de comprimento foram coletadas e submetidas ao pré-tratamento de 8-hidroxiquinoléina 0,004M por 4 horas. Os materiais foram fixados em solução Carnoy e seguidamente foram preparados lâminas mitóticas da espécie. As metáfases foram classificadas em boas, médias e ruins de acordo com o grau de espalhamento e a condensação cromossômica. Concluiu-se que o número cromossômico das duas populações da espécie *Rottboellia cochinchinensis* foi de $2n = 6x = 60$ cromossomos. Assim, pode-se esperar respostas similares no manejo dessas populações, sugerindo que esse tipo deve ser o mais comum nos canaviais avaliados.

Palavras-chave: capim-camalote, cromossomos, manejo

Chapter 4: Cytogenetic characterization of *Rottboellia cochinchinensis* in two different locations of São Paulo State, Brazil

ABSTRACT – Taking into account the difficulties of *Rottboellia cochinchinensis* management that may be related to the species polymorphism, we arouse the hypothesis of biotypes presence within and among different populations in sugarcane crops. Chromosomal number of two plant populations were used to verify that hypothesis, in sugarcane fields of São Paulo State. For such determination, seeds were sown on filter paper placed into gerboxes, with nystatin applications to control microorganisms. The rootlets of 3 cm in length were collected and subjected to the pretreatment of 8-hydroxyquinoline 0.004M for 4 hours. Rootlets of 3 cm in length were collected and subjected to a pretreatment of 0.004M 8-hydroxyquinoline for 4 hours. The materials were fixed in Carnoy's fluid and, subsequently, mitotic slides were prepared for the species. Metaphases were classified as good, medium and bad according to the degree of chromosome scattering and condensation. It was concluded that both population chromosome number were $2n = 2x = 60$ chromosomes. Thus, similar responses can be seen for their management, suggesting that this type should be the most common in the evaluated sugarcane.

Key words: itchgrass, chromosomes, management

Introdução

A espécie *Rottboellia cochinchinensis*, pertencente à família Gramineae, conhecida vulgarmente no Brasil por capim-camalote, recebe a denominação de "caminhadora" em muitos países tropicais da América (ALLOUB et al., 2005), devido ao seu poder de dispersão. A espécie já é de ocorrência no Brasil, principalmente em alguns municípios do Estado de São Paulo produtores de cana-de-açúcar, como Igarapava, Mococa, Piracicaba, Dumont, Porto Ferreira.

De acordo com SILVA et al. (2009), a espécie vem apresentado dificuldade de controle e isso, associada à sua agressividade, confere elevado potencial de disseminação para outros municípios em poucos anos.

Assim, qualquer conhecimento sobre a biologia dessa espécie proporcionará maiores subsídios para o seu manejo. De acordo com ARÉVALO e BERTONCINI (1994), essa espécie pode ocasionar perdas de rendimento de até 100% em cana-planta e até 80% em cana-soca.

Há uma diversidade de plantas daninhas, principalmente, gramíneas, nos canaviais paulistas. No entanto, informações sobre variabilidade genética (ZANATTA e ZANATTA, 2012) e estudos relacionados à contagem do número cromossômico destas espécies são escassos na literatura.

KISSMANN (1997) observou que a espécie *R. cochinchinensis* pode ser diplóide, tetraplóide ou hexaplóide com, respectivamente, $2n = 20, 40, 60$ cromossomos, além de existir plantas com número irregular $2n = 36$ cromossomos, corroborando a pesquisa de FISHER et al. (1987).

Estudos envolvendo a determinação do número de cromossomos em plantas daninhas foram desenvolvidos por GUARESCHI et al. (2012) com *Conyza bonariensis*, TECHIO et al. (2002) com *Pennisetum* spp, AARESTRUP et al. (2008) com *Euphorbia heterophilla* (MENDES-BONATO et al., 2002), para *Brachiaria brizantha* (POZZOBON e VALLS, 2003) estudando *Paspalum* e VALLS (2000) com estudos sobre *Axonopus*.

Considerando as dificuldades de manejo encontradas no controle da espécie *Rottboellia cochinchinensis* que podem estar associada ao polimorfismo presente na espécie, elaborou-se a hipótese de que a dificuldade do controle químico observada

pelos produtores é devida a existência de biótipos entre e dentro das diferentes populações infestantes de canaviais. Para verificar a hipótese objetivou-se estudar o número cromossômico de duas populações de capim-camalote, presentes na cultura da cana-de-açúcar, no Estado de São Paulo.

Material e métodos

Para o estudo, coletou-se as sementes de *R. cochinchinensis* em áreas de produção comercial de cana-de-açúcar com histórico de presença da espécie e com pouca eficácia de controle químico, entre os meses de fevereiro a abril/2014. Os locais foram nos municípios de Igarapava e Mococa, localizados no Estado de São Paulo, como observado na Figura 1.

Dentro de cada talhão (população), tomou-se pontos amostrais distanciados com aproximadamente 10 metros entre si. Na população em que observou-se mais sementes sobre a superfície do solo, coletou-se dez pontos amostrais (Igarapava) e na população com menor sementes sobre o solo, coletou-se em quinze pontos (Mococa).



Figura 1. Localização das áreas no coleta município de Igarapava e Mococa/SP.

Em cada ponto, varreu-se a superfície do solo e o material coletado foi colocado em embalagens de papel. As amostras foram levadas ao laboratório, peneiradas para retirar material estranho e as sementes homogeneizadas em um único lote.

O experimento ocorreu no município de Ribeirão Preto, SP, a 621 m de altura do nível do mar e 21°12'28.29" de latitude Sul e 47°52'23.30" de longitude Oeste. O clima é característico de verões quentes e úmidos e invernos secos e frios, considerado como tropical de altitude (Cwa), segundo a classificação de Köppen.

As sementes foram colocadas para germinar em caixas gerbox com papel de germinação umedecidos com água, e levadas à câmara de germinação (B.O.D.) com temperatura constante de 32°C (+1-1) dia e 27°C (+1-1) noite e fotoperíodo de 14 horas/dia, até a obtenção de raízes com cerca de 3 centímetros. As sementes foram regadas periodicamente, com solução de nistatina 1%, com o objetivo de eliminar microrganismos.

As raízes foram coletadas e imediatamente imersas em antimetabólico (8-hidroxiquinolina na concentração de 0,04%), por 4 horas, à temperatura ambiente.

Posteriormente, as raízes foram lavadas e fixadas em solução Carnoy (3 etanol: 1 ácido acético glacial) e acondicionadas em geladeira. As preparações citogenéticas foram realizadas de acordo com GUERRA e SOUZA (2002).

As metáfases obtidas no experimento foram classificadas como: boas, quando apresentavam um alto grau de espalhamento cromossômico e boa condensação cromossômica; médias, quando apresentavam boa condensação, porém com cromossomos sobrepostos; e ruins, quando apresentavam baixo grau de espalhamento cromossômico e baixa condensação cromossômica.

As metáfases foram observadas em microscópio óptico no aumento de 1000x e a contagem cromossômica auxiliada pelo programa IKAROS (Metasystems). As imagens das metáfases foram obtidas por meio da câmera AxioCam ERc 5s (Carl Zeiss) e do programa AxioVision 4.8 (Carl Zeiss Vision).

Resultados e Discussão

A análise de citogenética na espécie *Rottboellia cochinchinensis* para as populações dos locais Igarapava e Mococa permitiram identificar o número cromossômico dos indivíduos das duas populações analisadas de $2n = 60$ cromossomos (Figura 1).

No gênero *Rottboellia* as espécies são poliplóides com $n = 10$ cromossomos, podendo ser encontradas espécies diplóides, tetraplóides ou hexaplóides, com $2n = 20, 40$ e 60 cromossomos, respectivamente, ou ainda apresentar número irregular de cromossomos $2n = 36$ (KISSMANN, 1997). Relatos mais antigos para essa espécie *R. cochinchinensis* apresentam níveis de ploidia com dois prováveis números básicos $n = 9$ e $n = 10$ (FISHER et al. 1987).

CRISTOPHER et al. (1989) estudando a morfologia da espécie *Rottboellia cochinchinensis* na Índia, encontraram a espécie "robusta" e "curto", com números de cromossomos diferentes, $2n = 40$ e 20 , respectivamente. Nos locais coletados não foram observadas diferenças morfológicas na espécie (análises visuais), provavelmente devido às populações serem de municípios relativamente pertos (245 km), apresentando o mesmo ambiente para o desenvolvimento da espécie. De acordo com a classificação de Koeppen, os municípios apresentam clima tipo Aw tropical chuvoso com inverno seco e mês mais frio com temperatura média superior a 18°C (CEPAGRI, 2015).

O estudo do número de cromossomos das plantas no Brasil ainda é concentrado em grandes culturas, como por exemplo, cana-de-açúcar, café, milho. No entanto, esses trabalhos podem fornecer respostas para ajudar no manejo de plantas daninhas.

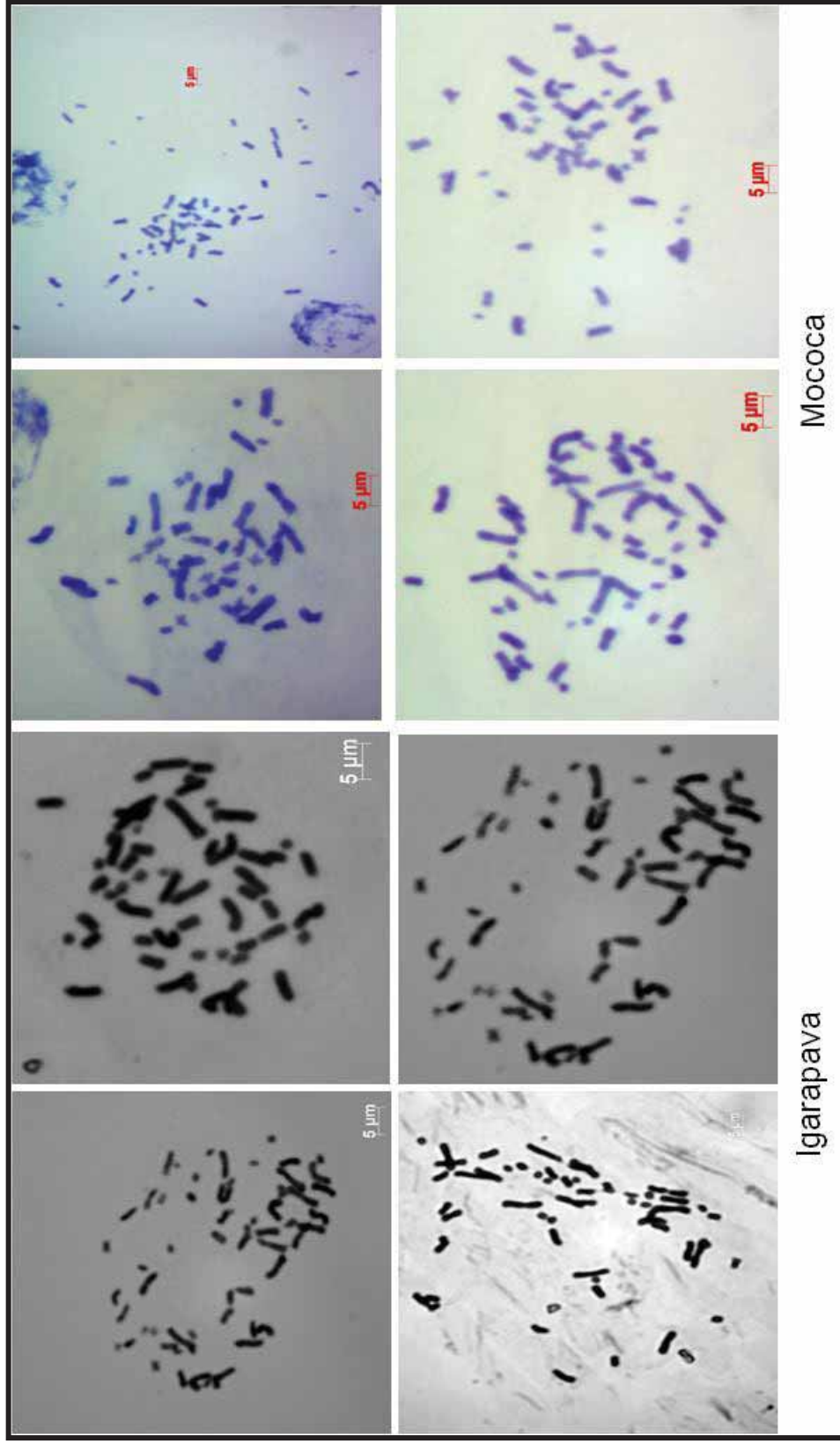


Figura 1. Metáfases mitóticas da espécie *Rottboellia cochinchinensis* em 8- hidroxiquinolona a 0,04%: 2n = 6x = 60 cromossomos – população de Igarapava e Mococa.

ALVES et al. (2003) analisaram seis populações com a espécie *R. cochinchinensis* e encontraram $2n = 20$ para Ribeirão Preto e $2n = 60$ para Igarapava, enquanto que nas demais populações o número de cromossomos variou de 30 a 60. MILLHOLLON e BURNER (1993) obtiveram como números cromossômicos para a maioria dos biótipos $2n = 20$. No entanto, os biótipos brasileiros e colombianos foram hexaplóides $2n = 60$. Esses resultados corroboram os encontrados nesse estudo.

Estudos citogenéticos com outras espécies de plantas daninhas como *Bidens pilosa* (BARROSO et al., 1991) encontraram número cromossômico de $n = 12$. MARIANO e MARIN-MORALES (1998) analisando populações de *Bidens pilosa* encontraram número cromossômico de $2n = 48$ e $2n = 72$ cromossomos. Na espécie *Conyza* o número cromossômico encontrado foi de $2n = 6x = 54$ BERNARDELLO (1986) e HUNZIKER et al. (1990). Em estudos recentes do número cromossômico em *C. bonariensis* GUARESCHI et al. (2012) encontraram variação no número cromossômico tetraplóide para pentaplóides da espécie com $2n = 4x = 36$ e planta com $2n = 5x = 45$ cromossomos.

Populações de *Mikania glomerata* apresentaram variações no número de cromossomos com $2n = 36$ e $2n = 4$ cromossomos, populações diplóides e $2n = 72$ para as populações tetraplóides MAFFEI et al. (1999).

Há a necessidade de estudos para explorar os efeitos dos herbicidas envolvendo o número cromossômico das espécies de plantas daninhas, pois a falta de controle encontrada no gênero *Rottboellia*, além de poder estar associada à poliploidia também pode estar associada a alterações que os mesmos podem provocar junto às raízes, sendo determinante para eficácia e/ou seletividade de herbicidas (ARALDI et al., 2011).

O número cromossômico relatado nesse trabalho para as duas populações estudadas do gênero *Rottboellia* demonstraram não haver variabilidade citogenética nas populações estudadas. Assim, os dados apresentados servem como registro provisório do mesmo, sendo necessários estudos em outros municípios e Estados onde se encontra a espécie, além de estudos dentro da espécie, pois com o estudo com o marcador AFLP foi observado nível similar de variabilidade dentro e entre a espécie nas diferentes populações.

Conclusão

Concluiu-se que o número cromossômico das duas populações da espécie *Rottboellia cochinchinensis* foi de $2n = 6x = 60$ cromossomos. Assim, pode-se esperar respostas semelhantes no manejo dessa espécie, sugerindo que esse tipo deve ser o mais comum nos canaviais avaliados.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo; ao Pólo Regional Nordeste Paulista – Mococa e ao Pólo Regional Centro Sul - Piracicaba, pela concessão do material para a realização desse trabalho.

Referências bibliográficas

AARESTRUP, J. R.; KARAM, D.; FERNANDES, G. W. Chromosome number and cytogenetics of *Euphorbia heterophylla* L. **Genetics and Molecular Research**, v. 7, p. 217-222, 2008.

ALLOUB, H; JURAIMI, A. S.; RAJAN, A., KADIR, J.; SAAD, M. S.; SASTROUTOMO, S. Growth behavior of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) in Peninsular Malaysia. **Weed Biology and Management**, v. 5, n. 1, p. 8-13, 2005.

ALVES, P. L. C. A.; BACHEGA, M. F.; MORO, J. R.; LEMOS, M. V. F.; ALVES, E. C. C.; SILVA, M. A. S.; MORO, F. V. Identification and characterization of different accessions of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*). **Weed Science**, v. 51, n. 2, p. 177-180, 2003.

ARALDI, R.; VELINI, E. D.; GIROTTO, M.; CARBONARI, C. A.; SAMPAIO, T. F.; TRINDADE, M. L. B. Relação entre o consumo de água e a absorção de herbicidas em plantas daninhas e cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v. 29, p. 1045-1051, 2011.

ARÉVALO R. A.; BERTONCINI, E. I. Biologia e manejo de *Rottboellia exaltata* na cultura da cana-de-açúcar *Saccharum* spp.: análise do problema. Piracicaba: Estação Experimental de cana-de-açúcar - IAC, p. 24, 1992.

BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; GUIMARÃES, E. F.; LIMA, H. C. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Viçosa: Imprensa Universitária, Cap. 3, p. 237-258, 1991.

BERNARDELLO, L. M. Números cromosômicos em Asteraceae de Córdoba. **Darwiniana**, v. 27, p. 169-178, 1986.

CENTRO DE PESQUISAS METEOROLÓGICAS E CLIMÁTICAS APLICADAS A AGRICULTURA – CEPAGRI, 2015. Disponível em:<<http://www.cepagri.unicamp.br>> Acesso em: 25 fev. 2015.

CRISTOPHER, J.; KUMARI, S.; MINI, L. S. Cyto-taxonomic studies of *Rottboellia exaltata* Linn. complex. **Cytologia**, v. 54, p. 335-342, 1989.

FISHER, H. H., MENENDEZ, R. A.; DALEY, L. S.; ROBB-SPENCER, D.; CRABTREE, G. D. Biochemical characterization of itchgrass (*Rottboellia exaltata*) biotypes. **Weed Science**, v. 35, p. 33-338, 1987.

GUARESCHI, A.; PASTORI, T.; KRUSE, N. D.; MACHADO, S. L. O.; CANTO-DOROW, T. S.; TEDESCO, S. B. Cytogenetics characterization of *Coryza bonariensis* (L.) Cronquist populations from Brazil. **Ciência e Natura**, v. 34, n. 1, p. 39-48, 2012.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia prático de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Editora Fumpec, p. 131, 2002.

HUNZIKER, J. H.; ESCOBAR, A.; XIFRED, C. C.; GAMERRO, J. C. Estudios cariologicos en Compositae VI. **Darwiniana**, v. 30, p. 115-121, 1990.

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

MAFFEI, E. M. D.; MARIN-MORALES, M. A.; RUAS, P. M.; RUAS, C. F. Numerical chromosome polymorphism in *Mikania cordifolia* Willd. (Asteraceae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, p. 609-612, 1999.

MARIANO, A. C.; MARIN-MORALES, M. A. Chromosome polymorphism and cytotype establishment in *Bidens pilosa*, (Asteraceae). **Cytobios**, v. 384, p. 45-60, 1998.

MENDES-BONATO, A. B.; PAGLIARINI, M. S.; FORLI, F.; VALLE, C. B.; PENTEADO, M. I. O. Chromosome number and microsporogenesis in *Brachiaria brizantha* (Gramineae). **Euphytica**, v. 125, n. 3, p. 419-425, 2002.

MILLHOLLON, R. W.; BURNER, D. M. Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) Biotypes in World Populations. **Weed Science**, v. 41, n. 3, p. 379-387, 1993.

POZZOBON, M. T.; VALLS, J. F. M. Chromosome number in Brazilian germoplasm accessions of *Paspalum hydrophilum*, *P. modestum* and *P. palustre* (Gramineae; Paniceae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, p. 365-368, 2003.

SILVA, C. E. B.; PARREIRA, M. C.; ALVES, P. L. C. A.; PAVANI, M. C. M. D. Aspectos germinativos de capim-camalote (*Rottboellia cochinchinensis*). **Planta Daninha**, v. 27, n. 2, p. 273-281, 2009.

TECHIO, V. H.; DAVIDE, L. C.; PEREIRA, A. V.; BEARZOTI, E. Cytotaxonomy of some species and of interspecific hybrids of *Pennisetum* (Poaceae, Poales). **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, n. 2, p. 203-209, 2002.

VALLS, J. F. M. Impacto do conhecimento citogenético na taxonomia de *Paspalum* e *Axonopus* (Gramineae). In: CAVALCANTI, T. B.; WALTER, B. M. T. (Org). **Tópicos atuais em botânica**. SBB/Embrapa Recursos e Biotecnologia, p. 57-60, 2000.

ZANATTA, T. S. C.; ZANATTA, J. F., Aplicações da Biotecnologia no estudo de plantas daninhas. **Revista Científica da Faculdade de Balsas**, Ano III, n. 3, 2012.

Considerações finais

- Pelas análises genéticas, conclui-se que a similaridade genética foi elevada (78%) entre as populações de capim-camalote coletadas nos municípios de Igarapava, Mococa e Piracicaba, Estado de São Paulo.
- A sensibilidade aos herbicidas foi semelhante com os tratamentos utilizados, apresentando controle satisfatório até aos 30 DAA. Após isso, devido à dormência que as sementes apresentam, ocorreu novo fluxo de emergência e recuperação das plantas, com necessidade de nova aplicação de herbicida para que o controle se torne efetivo.
- O número cromossômico das duas populações estudadas da espécie *Rottboellia cochinchinensis* foi de $2n = 6x = 60$ cromossomos, sugerindo que esse deve ser o tipo mais comum nos canaviais avaliados.
- Pela similaridade genética, igualdade no número de cromossomos e semelhante sensibilidade aos herbicidas espera-se obter respostas de manejo semelhantes entre as populações estudadas.