

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA



TESE DE DOUTORADO

***Análise genética e morfofisiológica de Euphorbia
heterophylla L. (Euphorbiaceae)***

ORIENTADO: **Juliana Roriz Aarestrup**

ORIENTADOR: **Prof. Dr. Geraldo Wilson Fernandes**

CO-ORIENTADOR: **Dr. Décio Karam**

BELO HORIZONTE

Dezembro – 2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Juliana Roriz Aarestrup

**ANÁLISE CITOGENÉTICA E MORFOFISIOLÓGICA DE *Euphorbia heterophylla* L.
(Euphorbiaceae)**

Tese apresentada ao curso de Doutorado em Genética do Departamento de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de doutor em Genética.

Área de concentração: Genética evolutiva

Orientador: Geraldo Wilson Fernandes

Co-orientador: Dr. Décio Karam

Belo Horizonte

Dezembro de 2007



A Deus,
aos meus pais,
agradecerei, eternamente, a oportunidade de viver.

“Distante de ti, senhor
não posso viver
não vale a pena existir.
Escute o meu clamor
mais que o ar que eu respiro,
preciso de ti.”

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela força e pelo conforto, nos momentos de intranqüilidade espiritual.

À Universidade Federal de Minas Gerais e ao Programa de Pós-Graduação em Genética, pela oportunidade de realização desse curso.

À Fapemig, pelo apoio financeiro.

À Embrapa Milho e Sorgo, pela disponibilidade de execução das atividades práticas.

Ao meu pai, José Luiz Aarestrup Alves, pelo amor e pelas incansáveis horas de incentivo.

Ao meu irmão, Henrique Roriz Aarestrup Alves, pelo seu afeto, apoio emocional e enorme carinho.

Ao meu esposo, Eduardo José Azevedo Corrêa, pela dedicação, esforço em auxiliar-me e pelo ombro amigo.

À minha avó querida, Agnes Aarestrup Alves, pelo aconchego e por acreditar na minha capacidade de conquista.

À minha amiga do coração, Érica Cunha Issa, pelo apoio e por tornar as tarefas cotidianas mais alegres e engraçadas.

Ao professor Geraldo Wilson Fernandes, pela orientação e dedicação no decorrer do curso.

Ao Dr. Décio Karam, pela co-orientação, pelo apoio, carinho e, sobretudo, pela amizade e pelas consideráveis sugestões.

À Marina, secretária do Programa de Pós-Graduação em Genética, pela dedicação, amizade, pelo apoio, carinho ...

Aos colegas da Embrapa Milho e Sorgo, Marquinhos, Liliane, Leandro e Simone, pelo convívio sempre agradável e pela diversão no ambiente de trabalho.

Aos meus amigos Izabella, Marcelo, Adrienne e Fábio pelo carinho e companheirismo.

Ao Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Genética, professor Vasco Ariston de Carvalho Azevedo, pela atenção e disponibilidade.

À todos os professores, pela contribuição no meu crescimento profissional.

À todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

À todos, o meu sincero muito obrigada.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E UNIDADES	viii
RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO GERAL	3
1.1. As plantas daninhas	3
1.1.1. Características gerais	3
1.1.2. Importância econômica	5
1.1.3. Manejo por herbicidas	6
1.1.4. Resistência a herbicidas	9
1.2. A espécie <i>Euphorbia heterophylla</i>	11
1.2.1. Dispersão e aspectos taxonômicos	11
1.2.2. Características morfofisiológicas	12
1.2.3. Importância econômica e resistência aos herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS)	14
1.2.4. Aspectos citogenéticos	16
1.3. Justificativa	19
1.7 Objetivo geral	21
2. CAPÍTULOS	22
2.1. Capítulo 1	22
2.1.1. Introduction	22

2.1.2. Materials and methods	23
2.1.3. Results and discussion	24
2.1.4. Conclusion	27
2.2. Capítulo 2	29
2.2.1. Introdução	29
2.2.2. Material e métodos	30
2.2.3. Resultados e discussão	31
2.2.4. Conclusão	33
2.3. Capítulo 3	35
2.3.1. Introdução	35
2.3.2. Material e métodos	36
2.3.3. Resultados e discussão	37
2.3.4. Conclusão	39
2.4. Capítulo 4	40
2.4.1. Introdução	40
2.4.2. Material e métodos	41
2.4.3. Resultados e discussão	42
2.4.4. Conclusão	46
3. CONCLUSÃO GERAL	47
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

LISTA DE FIGURAS

Figura	Título	Página
Cap. 1-1	Metaphasic chromosomes of <i>Euphorbia heterophylla</i> L. treated with 8-HQ at 0.0029M, for 21h30min in 4 °C.	24
Cap. 1-2	Interphasic cell of <i>Euphorbia heterophylla</i> L. Note nucleolus distincted with Giemsa.	25
Cap. 1-3	Metaphasic chromosomes of <i>Euphorbia heterophylla</i> L. treated with colchicin 0.5%, for 21h30min in 4 °C.	26
Cap. 1-4	Metaphasic chromosomes of <i>Euphorbia heterophylla</i> L. treated with 8-HQ 0.0029M, for 21h30min in 4 °C.	27
Cap. 4-1	Porcentagem de controle do crescimento em altura de <i>Euphorbia heterophylla</i> , biótipos resistente e suscetível, em função das doses do herbicida chlorimuron-ethyl. Para S: $y=26,704\ln(x) + 71,334$; Para R: $y=7,752\ln(x) + 22,404$.	44
Cap. 4-2	Porcentagem de Controle crescimento do comprimento foliar de <i>Euphorbia heterophylla</i> , biótipos resistente e suscetível, em função das doses do herbicida chlorimuron-ehtyl. Para S: $y=25,787\ln(x) + 49,372$; Para R: $y=8,5175\ln(x) + 20,584$.	44
Cap. 4-3	Porcentagem de controle do crescimento em largura foliar de <i>Euphorbia heterophylla</i> , biótipos resistente e suscetível, em função das doses do herbicida chlorimuron-ethyl. Para S: $y=19,041\ln(x) + 75,692$; Para R: $y=6,355\ln(x) + 32,814$.	45

LISTA DE TABELAS

Tabela	Título	Página
Cap. 2-1	Porcentagens de germinação de sementes de <i>Euphorbia heterophylla</i> submetidas a tratamentos pré-germinativos.	32
Cap. 3-1	Viabilidade de sementes de <i>Euphorbia heterophylla</i> submetidas aos testes de germinação e tetrazólio, após 14 meses de armazenamento em condições variáveis de temperatura. AL – Sementes germinadas em ausência de luz; LC – Sementes germinadas sob luz contínua.	38
Cap. 4-1	Porcentagem média de controle de <i>Euphorbia heterophylla</i> , biótipos resistente (R) e suscetível (S), em função das doses do herbicida chlorimuron-ethyl para as características de crescimento em altura, crescimento do comprimento foliar e crescimento do comprimento da largura foliar.	43
Cap. 4-2	Doses (g/L) correspondentes ao GR ₅₀ dos biótipos resistente (R) e suscetível (S) de <i>Euphorbia heterophylla</i> a aplicação de chlorimuron-ethyl e a relação R/S.	46

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E UNIDADES

ALS	Acetolactato sintase
$\text{ArcSen}\sqrt{x}$	Arcoseno raiz quadrada de x
AT	Adenina e timina
C	Média dos valores das plantas controle para as amostras de CA, CF, LF
°C	Graus Celsius
CA	Crescimento em altura das plantas
CF	Comprimento foliar
CO ₂	Gás carbônico
cm	Centímetro
DC	Dia curto
DL	Dia longo
DNA	Ácido desoxirribonucléico
g/ha	Gramas por hectare
g/L	Gramas por litro
GR ₅₀	Dose para 50% de controle dos biótipos resistentes e suscetíveis
h.	Horas
HVS	Vírus da herpes
LF	Largura foliar
L.ha ⁻¹	Litro por hectare
LN	Regressão logarítmica
M	Molar
Min.	Minutos
mL	Mililitro
mm	Milímetro
n	Célula gamética
nm	Nanômetros
NOR	Região organizadora nucleolar

pH	Potencial hidrogeniônico
R	Biótipo resistente
rRNA	Ácido ribonucléico ribossômico
R/S	Razão entre GR ₅₀ do biótipo resistente e do biótipo suscetível
S	Biótipo suscetível
T1, T2 ...	Tratamentos
US\$	Dólar
V/V	Volume por volume
x	Número básico de cromossomos
2n	Célula somática
%	Porcentagem
8-HQ	8-hidroxiquinoleína
3:1	Três partes de... para uma de...

RESUMO

AARESTRUP, Juliana Roriz, D.S., Universidade Federal de Minas Gerais, Dezembro de 2007. Análise **genética e morfofisiológica de *Euphorbia heterophylla* L. (Euphorbiaceae)**. Orientador: Geraldo Wilson Fernandes. Co-orientador: Décio Karam.

Euphorbia heterophylla (Euphorbiaceae) é uma planta daninha muito comum no Brasil e com alta capacidade de competição com a cultura de soja. Como alternativa de controle da espécie, aplicações repetidas de herbicidas têm sido realizadas, o que vem exercendo alta pressão de seleção. Assim, biótipos de *E. heterophylla* resistentes aos herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) têm sido encontrados. Os objetivos desse estudo foram: realizar análises numéricas e morfológicas dos cromossomos; avaliar os biótipos suscetíveis e resistentes aos herbicidas inibidores da enzima ALS, quanto à germinação, na presença e ausência de tratamentos pré-germinativos, viabilidade e dormência de estoques de sementes e ao desenvolvimento vegetativo de plantas sob efeito do herbicida chlorimuron-ethyl (inibidor da ALS); verificar a eficácia dos testes de germinação e tetrazólio na determinação da viabilidade das sementes. As análises citogenéticas permitiram verificar a presença de células $2n=28$ cromossomos, com um par (par 1) de cromossomos contendo uma constrição secundária. Células interfásicas com um nucléolo foram observadas, sugerindo a existência de supressão nucleolar na espécie. Alterações morfológicas nos cromossomos são sugestivas de rearranjos no genoma da espécie. As sementes armazenadas por três meses não apresentaram dormência e não necessitaram de longos períodos de embebição em água para que ocorra a germinação. Houve diferenças na germinação das sementes dos biótipos resistentes e suscetíveis, após a utilização de tratamentos pré-germinativos. As sementes suscetíveis e resistentes armazenadas por 14 meses se mantêm viáveis. O biótipo resistente não foi controlado por nenhuma das dosagens utilizadas no estudo, mesmo após a aplicação de oito vezes a dosagem comercial do produto (1,022 Kg/ha). O crescimento das folhas, em largura e comprimento, e da altura das plantas variou em cada dosagem aplicada. A dose comercial (0,127 Kg/ha) de chlorimuron-ethyl permitiu um crescimento maior em comprimento do que em largura das folhas.

ABSTRACT

AARESTRUP, Juliana Roriz, D.S., Universidade Federal de Minas Gerais, December 2007.

Genetics and morphophysiological study of *Euphorbia heterophylla* (Euphorbiaceae).

Advisor: Geraldo Wilson Fernandes. Co-advisor: Décio Karam.

Euphorbia heterophylla (Euphorbiaceae) is an invasive species, very common in Brazil, that competes with several other cultures, including soybean. As an alternative for control of this species, repeated herbicide applications have been utilized, therefore resulting in strong selective pressure on this plant. As a result of herbicide selection, resistant biotypes to herbicides that are inhibitors of the acetolactate synthase enzyme (ALS) have been found in diverse environmental situations. Despite the environmental impact that they cause, the knowledge on the ecology and genetics of this species is very limited. The goals of this work were: to perform numerical and morphological analyses of chromosomes; to evaluate the germination of herbicide susceptible and resistant biotypes in the presence and absence of pre-germination treatments, viability and dormancy of seed stocks, and development of plants under the effect of the herbicide chlorimuron-ethyl (ALS inhibitor); to verify the efficacy of germination and tetrazolium tests in the determination of seed viability. The cytogenetic analyses indicated the presence of cells with $2n=28$ chromosomes, with pair 1 bearing a secondary restriction. Interphasic cells with nucleolus were observed, suggesting the existence of nucleolar suppression. Morphological alterations in the chromosomes are suggestive of rearrangements in the genome of the species. Seeds stored for three months did not exhibit dormancy and germination occurred without long periods in water. There were differences in the germination of the seeds of the resistant and susceptible biotypes after pre-germination treatments. The tetrazolium and germination tests allowed to verify that susceptible and resistant seeds stored for 14 months are viable. The resistant biotype was not controlled by any of the chlorimuron-ethyl dosages utilized in the study, even after the application of doses 8-fold higher than the commercially recommended (1,022 Kg/ha). Plant height and leaf growth (width and length) varied according to the applied doses. With the commercially recommended dose (0,127 Kg/ha) of chlorimuron-ethyl leaves had a greater width.

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. As plantas daninhas

1.1.1. Características gerais

As plantas daninhas correspondem a um grupo de vegetais silvestres que crescem, espontaneamente, em áreas não desejadas pela espécie humana (Lorenzi, 2000) e originaram-se de um processo dinâmico de adaptação às alterações ambientais naturais ou por ações antropológicas, através das atividades agropecuárias (Christoffoleti *et al.*, 1994). Ocupam locais onde, por qualquer motivo, a cobertura natural foi extinta e o solo tornou-se exposto (Pitelli, 1987).

As plantas daninhas apresentam flexibilidade adaptativa frente a eventuais alterações ambientais, o que lhes confere maior capacidade de competição pela sobrevivência (Pitelli, 1987). Muitas espécies daninhas são cosmopolitas e boas colonizadoras, ocorrendo em todos os continentes. *Eichornia crassipes*, planta aquática originária da Bacia Amazônica, por exemplo, disseminou-se em todas as regiões tropicais e sub-tropicais do planeta, através de ações humanas. Inicialmente, foi introduzida nos Estados Unidos como planta ornamental, onde se adaptou e espalhou rapidamente (Deuber, 1992).

Quanto ao ciclo de vida, as plantas daninhas podem ser perenes, anuais ou bianuais (Deuber, 1992). As espécies perenes possuem ciclo de vida superior a 24 meses, podem se reproduzir por sementes e, ou órgãos vegetativos e são bastante frágeis, podendo se regenerar com facilidade (Pitelli, 1987; Deuber, 1992). A maioria das espécies daninhas presentes no Brasil é anual, completando o seu ciclo em um período inferior a 12 meses. Podem florescer e frutificar, precocemente, em condições de seca e, muitas espécies apresentam mais de um ciclo reprodutivo dentro do mesmo ano. As plantas daninhas bianuais possuem ciclo de vida superior a 12 meses e inferior a 24 meses. Geralmente, germinam na primavera e no verão do primeiro ano e morrem ao frutificarem no outono do próximo ano (Deuber, 1992).

Ambientes abertos tendem a ser mais facilmente colonizados por espécies pioneiras de plantas, como as daninhas (Rejmánek & Richardson, 1996). Não só alguns ambientes são mais suscetíveis à invasão, mas as plantas daninhas também apresentam características que facilitam o seu estabelecimento em certos locais, tais como melhor aproveitamento de recursos naturais, reprodução por sementes, produção de grande

quantidade de sementes com tamanhos reduzidos, eficiência e rapidez na dispersão das sementes, formação de bancos de sementes de grande longevidade no solo e rápido crescimento vegetativo (Pitelli, 1987; Rejmánek & Richardson, 1996).

Geralmente, as plantas daninhas tendem a produzir alterações ecológicas por aproveitar melhor os recursos ambientais, como nutrientes do solo, água, luz, e gás carbônico. Comparativamente, as espécies daninhas conseguem acumular maiores quantidades de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e magnésio em seus tecidos do que as plantas cultivadas (Lorenzi, 2000).

As plantas daninhas podem ser disseminadas pelo ser humano, vento, pela água e por animais. Muitas sementes são dotadas de estruturas especiais que favorecem sua flutuação na água ou movimentação pelo vento que auxiliam a sua colonização. No caso de *Bidens pilosa* e *Cenchrus echinatus*, as sementes ou frutos apresentam ganchos que se aderem aos pêlos dos animais. Sendo assim, a facilidade e o modo de dispersão das sementes é um fator de grande importância para o estabelecimento dessas plantas em uma determinada área. Os animais domésticos e selvagens, ao ingerirem ou transportarem sementes, também contribuem para a colonização das plantas daninhas em regiões distantes da planta-mãe. As aves, particularmente, são bastante eficientes nessa disseminação, uma vez que voam a distâncias relativamente grandes num curto espaço de tempo. Mas a propagação da maioria das espécies de plantas daninhas presentes em solos agrícolas ocorre por ações humanas e a contaminação de sementes de plantas cultivadas com espécies daninhas tem sido o método mais rápido de infestação de áreas agrícolas (Lorenzi, 2000).

Grande parte das sementes produzidas por uma espécie daninha não germina logo que se tornam maduras. A germinação pode ocorrer anos mais tarde, por terem grande longevidade (Deuber, 1992; Lorenzi, 2000). Nesse caso, após atingirem a maturidade, as sementes passam por um período de latência, ocorrendo pequena atividade metabólica, favorecendo a perpetuação da espécie (Carvalho & Nakagawa, 1980).

Conjuntamente, os fatores genéticos e ambientais, influenciam na viabilidade das sementes. As características genéticas definem a longevidade de uma espécie, enquanto que os efeitos como o desenvolvimento, a maturação, colheita e o armazenamento são fatores do ambiente que determinam a qualidade das sementes. Espécies como *Mimosa glomerata*, *Astragalus massiliensis* e *Dioclea paucifera* apresentam sementes viáveis por mais de 100 anos (Carvalho & Nakagawa, 1980).

Algumas plantas daninhas são altamente competitivas, pois necessitam de menores quantidades de água para o seu crescimento, realizam fotossíntese mesmo em condições de saturação de luz e temperaturas acima de 30°C, como *Ricinus communis*,

Euphorbia heterophylla e *Brachiaria plantaginea*. Tais espécies apresentam nítida superioridade fisiológica em relação às outras e são denominadas de plantas daninhas eficientes (Deuber, 1992).

1.1.2. Importância econômica

O termo daninha se refere às plantas consideradas indesejáveis pelo homem. Contudo, muitas dessas plantas podem beneficiar o ambiente, protegendo o solo contra processos erosivos. Algumas leguminosas, como espécies dos gêneros *Desmodium*, *Crotalaria* e *Stylosantes*, ajudam a enriquecer o solo por apresentarem em suas raízes, bactérias fixadoras de nitrogênio (Deuber, 1992).

Embora algumas plantas daninhas possuam aspectos benéficos, certas daninhas prejudicam a saúde da espécie humana e de outros animais. Algumas dessas plantas podem abrigar animais que transmitem doenças ao homem, como o caramujo transmissor da esquistossomose (Lorenzi, 2000). As sementes de pinhão-do-paraguai (*Jatropha*), por exemplo, quando ingeridas, provocam disenterias (Joly, 1998) e a parte vegetativa de *Euphorbia biglandulosa* produz látex solúvel em água, altamente tóxico para os peixes (Novack *et al.*, 1980).

As plantas daninhas podem interferir a agricultura e pecuária, causando danos econômicos graves. A ocorrência de plantas indesejáveis à lavoura, já existentes ou introduzidas no local, provoca um desequilíbrio da produtividade, pois as espécies cultivadas e daninhas competem pelos mesmos componentes ambientais (Deuber, 1992).

O surgimento das plantas daninhas como um problema agrícola é atribuído ao próprio ser humano que, com o objetivo de melhorar as espécies úteis, prejudicou a competitividade entre as plantas silvestres e cultivadas, tornando as espécies daninhas cada vez mais eficientes quanto à sobrevivência (Lorenzi, 2000). *Euphorbia dentata*, por exemplo, planta invasora da cultura de soja, tem causado prejuízos que acarretam redução em até 40% da produtividade de tal cultura na Argentina. Por ser uma espécie de difícil controle, seu manejo tem sido feito através da aplicação de herbicidas (Juan *et al.*, 2003).

A existência de plantas daninhas em culturas dificulta a colheita, contamina os produtos colhidos com sementes e pedaços de plantas daninhas e aumenta o teor de umidade dos grãos das culturas, o que reduz o valor comercial das espécies cultivadas. A infestação de pragas em plantas cultivadas que utilizam daninhas como espécies intermediárias também é um fato muito comum na agricultura. Por exemplo, o fungo responsável pela podridão vermelha da cana-de-açúcar se hospeda, intermediariamente, na planta daninha *Sorghum halepense* (Lorenzi, 2000). As plantas daninhas aquáticas podem

prejudicar a utilização da água em propriedades rurais, pois reduzem a vida útil de reservatórios por acúmulo de detritos e, quando em altas densidades, comprometem a criação de peixes pela queda de teores de oxigênio na água (Pitelli, 1987).

Na pecuária, as plantas daninhas interferem no desenvolvimento de forrageiras e algumas são tóxicas aos animais. No sul do Brasil, a espécie *Bacharis cordifolia* causa grande incidência de mortalidade do gado e, conseqüentemente, acarreta em grandes perdas econômicas (Lorenzi, 2000).

A introdução de plantas daninhas também provoca impactos ecológicos relevantes, visto que podem alterar as cadeias tróficas, a estrutura e distribuição de espécies num dado ecossistema, distribuição de biomassa, densidade de espécies, taxas de decomposição e relação entre agentes polinizadores e plantas. Espécies daninhas de portes superiores ao da vegetação local produzem impactos ainda maiores, pois alteram a dominância e fisionomia de tais comunidades (Rejmánek & Richardson, 1996).

1.1.3. Manejo por herbicidas

Ao ser introduzida em um agroecossistema, uma cultura poderá encontrar sementes de espécies daninhas no solo, que vão emergir, espontaneamente, durante o ciclo de vida da planta cultivada e, com isso, o manejo de comunidades daninhas pode se dar a longo prazo, gerando gastos excessivos ao produtor (Pitelli, 1987).

Entende-se por manejo de plantas daninhas, a combinação de medidas preventivas, de controle e erradicação de tais espécies em um determinado sistema agrônomo ou ecológico (Victoria Filho, 2000). A prática ideal consiste na prevenção da infestação, evitando-se grandes gastos econômicos no combate e a redução da produção agrícola. Tal manejo pode ser realizado mecânica, química ou biologicamente (Deuber, 1992). Contudo, produtos químicos, tais como os herbicidas, têm sido a principal alternativa para o manejo das espécies daninhas (Klingman *et al.*, 1986; Deuber, 1992; Braccini, 2001) em virtude da grande oferta de produtos, da economia de mão-de-obra e rapidez da sua aplicação (Burnside, 1992). Ainda, os herbicidas podem prevenir o desenvolvimento da planta daninha, principalmente no início do seu ciclo de vida, geralmente quando causam perdas significativas nas culturas (Oliveira Jr., 2001).

Herbicidas são compostos químicos com a capacidade de selecionar, inibir ou exterminar o crescimento de determinadas populações de plantas (Klingman *et al.*, 1986; Deuber, 1992; Oliveira Jr., 2001). A descoberta dos herbicidas como “ferramenta” eficaz para o controle de espécies daninhas trouxe grande avanço para a agricultura, por proporcionar redução de custos e aumento de rendimentos das culturas. Novos compostos

são desenvolvidos, continuamente, visando maior eficácia no controle de plantas daninhas (Deuber, 1992).

No Brasil, os primeiros herbicidas começaram a ser utilizados no final da década de 1940, sendo o primeiro produto registrado no país, o 2,3-diclorofenoxiacético (Deuber, 1992). A comercialização de pesticidas tem evoluído rapidamente e apenas no período de 1994 a 1998, o aumento do volume das vendas de tais produtos no mundo foi de 82,8% (Oliveira Jr., 2001).

O mercado mundial de agrotóxicos tem movimentado cerca de US\$ 30 bilhões, sendo os herbicidas responsáveis pela maior fatia desse mercado (Winkler & Vidal, 2004; Cardoso *et al.*, 2004) e o Brasil está entre os principais consumidores de herbicidas do mundo (Gazziero *et al.*, 1997; Heap, 1997). Entretanto, todos os pesticidas apresentam certo grau de toxicidade para a espécie humana, plantas e animais (Oliveira Jr., 2001). Muitos herbicidas de grande potencial agrícola foram descartados em função dos riscos para a espécie humana, por serem cancerígenos, apresentarem toxicidade muito elevada ou deixarem resíduos no ambiente (Deuber, 1992).

Os mecanismos de ação dos herbicidas podem ser classificados em morfológicos ou metabólicos. Quando inibem ou alteram o crescimento e formato das plantas, ciclo celular, a membrana e parede celulares, são conhecidos como herbicidas morfológicos. Já quando suprimem reações bioquímicas, como fotossíntese e respiração celular, são chamados de herbicidas metabólicos (Deuber, 1992). O que determina a especificidade de um herbicida é a tolerância diferenciada que as plantas apresentam à ação do composto, podendo ser fatores externos ou internos à planta. As vias de absorção de herbicidas são, principalmente, as raízes e folhas (Klingman *et al.*, 1986; Deuber, 1992). Os meristemas, por serem as regiões de crescimento, apresentam intenso metabolismo e são as partes mais sensíveis à ação de herbicidas, de modo geral (Deuber, 1992).

As formulações de herbicidas solúveis em óleos são capazes de penetrar na barreira cuticular das folhas (Klingman *et al.*, 1986; Oliveira jr., 2001) e, quando se abrem, os estômatos permitem a entrada de herbicidas na forma de vapor ou solução (Deuber, 1992). Uma vez que um herbicida penetra na planta e se desloca para o local em que atua, ocorre o que se denomina de mecanismo de ação (Klingman *et al.*, 1986; Deuber, 1992; Oliveira, 2001). Os herbicidas considerados modernos inibem a atividade de uma proteína ou enzima na célula, acarretando no desencadeamento de eventos que impedem o desenvolvimento da célula ou do organismo e podem levar a planta à morte (Vidal, 1997).

Os fatores metabólicos são de grande importância na determinação da ação seletiva de herbicidas. Algumas espécies de plantas possuem enzimas ou mecanismos bioquímicos de detoxificação de herbicidas, cujas reações tendem a minimizar o estresse e

maximizar o uso de recursos internos e externos pelo organismo (Cataneo *et al.*, 2003). A dinâmica fisiológica de um herbicida, portanto, é bastante variável e depende tanto das características da planta (permeabilidade dos tecidos de revestimento externo, capacidade de translocação do produto dentro da planta e metabolismo da substância), quanto da concentração da dose aplicada e das condições ambientais, como umidade e ventilação local (Klingman *et al.*, 1986; Deuber, 1992; Oliveira, 2001). A idade da planta é outro fator importante e que deve ser avaliado antes da aplicação do herbicida. Geralmente, plântulas e plantas jovens são mais sensíveis à ação de herbicidas. O vigor e o estado nutricional também determinam maior ou menor tolerância da planta daninha ao herbicida (Deuber, 1992).

Um herbicida pode atuar em diferentes processos e sua ação depende da dose aplicada, espécie de planta daninha submetida ao tratamento herbicida e das condições climáticas (Deuber, 1992). Algumas plantas daninhas são mais sensíveis a um certo herbicida. Por exemplo, *Bidens pilosa* é facilmente controlada pelo herbicida glyphosate, na concentração de 31,86 g/ha. Contudo, o controle efetivo de *Commelina benghalensis*, *Ipoema grandifolia* e *Tridax procumbens* ocorre apenas com dosagens de 1680 g/ha, 1440 g/ha e 960 g/ha de glyphosate, respectivamente (Lacerda, 2003).

Alguns herbicidas apresentam amplo espectro de controle, atingindo todas as espécies daninhas, mas o problema é que também atuam sobre as plantas cultivadas e permanecem muito tempo no ambiente (Deuber, 1992). Assim, em regiões de monocultura com vários anos de utilização dos mesmos herbicidas ou de herbicidas com os mesmos mecanismos de ação, ocorrerá alteração da flora e espécies daninhas resistentes a herbicidas e com alto potencial competitivo podem ser selecionadas (Pitelli, 1987).

1.1.4. Resistência a herbicidas

O primeiro relato científico sobre a existência de uma planta daninha resistente a herbicida foi realizado em 1970, por Ryan, ao analisar uma população de *Senecio vulgaris* resistente aos herbicidas do grupo das triazinas. Desde então, foi observada a resistência de várias outras plantas daninhas aos herbicidas. No Brasil, a primeira espécie daninha reconhecida como resistente foi *Bidens pilosa* (Christoffoleti *et al.*, 1996).

O fenômeno da resistência de plantas daninhas aos herbicidas consiste na ocorrência de alguns biótipos (grupos de indivíduos de uma determinada espécie) com habilidade de sobreviver à aplicação do composto químico, ao qual a população original é suscetível (Kissmann, 1996).

A resistência de plantas daninhas aos herbicidas assume grande importância, principalmente em razão do limitado ou inexistente número de herbicidas alternativos como controle dos biótipos resistentes (Cardoso *et al.*, 2004). A dificuldade de se ter um conhecimento sobre os fatores que proporcionam o aparecimento de plantas resistentes aos herbicidas tem limitado ainda mais o controle da resistência em culturas (Christoffoleti *et al.*, 1994).

A probabilidade de infestação de uma área por um biótipo resistente a algum herbicida de uma população de plantas daninhas depende de fatores como a variabilidade genética, capacidade proliferativa e adaptabilidade ecológica da espécie, viabilidade e dormência das sementes do biótipo resistente, permanência e eficácia do herbicida utilizado no controle da planta daninha (Vidal & Fleck, 1997; Trezzi & Vidal, 2000) e frequência de utilização do herbicida ou de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação (Trezzi & Vidal, 2000; Christoffoleti & Ovejero, 2002).

A resistência aos herbicidas ocorre por alterações no DNA, conhecidas como mutações, que podem ser originadas naturalmente na população, ou após o uso de herbicida em uma determinada área (Christoffoleti & Ovejero, 2004). Portanto, em qualquer população de plantas, incluindo as espécies daninhas, é possível a existência de indivíduos resistentes aos herbicidas, em virtude da variabilidade genética normal da população. Com o tempo, a composição de tal população se alterará, após o uso contínuo e repetitivo do herbicida (Kissmann, 1996).

Na maioria das espécies, a resistência é transmitida pelo pólen, podendo atingir muitas plantas e propagar mais depressa a característica (Vidal & Fleck, 1997). Geralmente, a resistência aos herbicidas é determinada por genes nucleares dominantes ou co-dominantes, que por processo reprodutivo, podem ser transmitidos de um biótipo resistente para outro suscetível e os descendentes adquirirão tal resistência (Christoffoleti & Ovejero, 2004). Ainda, em espécies daninhas que apresentam sementes dormentes, quanto menor for o período de tal dormência, mais rápido poderá ocorrer a fixação do biótipo resistente na população (Christoffoleti, 1997).

As plantas apresentam maiores riscos de desenvolvimento de resistência quando os herbicidas utilizados possuem um único mecanismo de ação (Christoffoleti *et al.*, 1994). O tempo de ação do herbicida no ambiente também constitui um problema grave, pois a seleção de biótipos resistentes pode ocorrer mesmo após algum tempo de aplicação do produto. Por exemplo, o imazapyr, um herbicida seletivo para a cultura de *Pinus taeda*, apresenta amplo período residual no solo, podendo ser aplicado aos 45 dias antes do plantio das mudas e ainda controla as plantas daninhas suscetíveis em pelo menos 120 dias após o plantio (Christoffoleti *et al.*, 1998). O conhecimento sobre o poder seletivo de um

herbicida, portanto, constitui um dos pré-requisitos para que possa ser utilizado, visto que revela quais plantas são mais afetadas ou menos sensíveis ao produto (Christoffoleti *et al.*, 1994; Oliveira Jr., 2001).

Os efeitos citológicos de herbicidas têm sido estudados em diferentes espécies de plantas (Rost *et al.*, 1977; El-Sadek & Ashour, 1978; Mousa, 1982; Badr & Ibrahim, 1987). Alguns dos herbicidas utilizados apresentam ação antimitótica, causando vários tipos de aberrações cromossômicas, tais como poliploidização, células multipolares, pontes cromossômicas e cromossomos “perdidos”. Essas aberrações têm sido utilizadas como indicadores de danos genéticos (Ma, 1982). Em *Allium cepa*, *Hordeum vulgare* e *Pisum sativum*, o herbicida simazine causou um aumento no número de alterações cromossômicas, enquanto que gesagard, zenkor, semeron e treflan modificaram a estrutura do citoesqueleto e disjunção dos cromossomos durante a mitose (Kozhuro *et al.*, 2005). Existem relatos de que os herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) também provocam alterações citológicas, interrompendo a síntese protéica e, conseqüentemente, interferem na síntese do DNA e no crescimento celular (Ray, 1984).

Vários casos de resistência de plantas daninhas aos herbicidas têm sido relatados no Brasil, especialmente nas regiões sul, sudeste e centro-oeste. A cultura de soja é a que apresenta o maior número de espécies daninhas resistentes, pois mais de 50% dos herbicidas consumidos são utilizados no controle das plantas daninhas presentes em tal cultura (Christoffoleti & Ovejero, 2004). Dentre as daninhas resistentes detectadas no Brasil, *Euphorbia heterophylla* é a espécie que ocorre em um maior número de Estados do país (Weed Science, 2004).

1.2. A espécie *Euphorbia heterophylla*

1.2.1. Dispersão e aspectos taxonômicos

Euphorbia heterophylla (Euphorbiaceae) nativa das regiões tropicais e subtropicais das Américas (Kissmann & Groth, 1997; Barreto & Evans, 1998), é considerada planta invasora das culturas de soja, milho, arroz, banana (Kissmann & Groth, 1997; Lorenzi, 2000), feijão (Cobucci *et al.*, 1999) e amendoim (Willard & Griffin, 1993). Sua dispersão vai desde o sul dos Estados Unidos até o sul do Brasil (Costa, 1982). Existem registros da espécie, também, em regiões desérticas dos Emirados Árabes Unidos e no Marrocos (Suda, 2001). No Brasil, *E. heterophylla* é conhecida, popularmente, como picão-leiteiro, amendoim-bravo, leiteira (Suda, 2001), leiteiro, parece-mas-não-é, flor-de-poeta, adeus-brasil, mata-brasil, café-do-bispo e café-do-diabo (Lorenzi, 2000).

Existem algumas sinonímias para a espécie, tais como *E. prunifolia*, *E. geniculata*, *Poinsettia heterophylla* (Allem, 1975), *P. geniculata* (Wilson, 1981), *E. zonosperma* (Allem, 1975), *E. elliptica*, *E. frangulaefolia* (Bacchi *et al.*, 1984), *E. epilobiifolia*, *E. morisoniana*, *E. taiwaniana* e *P. ruiziana* (Lorenzi, 2000). Barreto & Evans (1998) relataram que as sinonímias *E. geniculata* e *E. prunifolia* são amplamente utilizadas na literatura.

E. heterophylla é bastante variável, fenotipicamente, principalmente em relação ao formato e tamanho da folha. Essa variabilidade morfológica é observada em indivíduos de diferentes populações, dentro de uma mesma população e até mesmo em uma única planta (Kissmann & Groth, 1997; Vasconcelos *et al.*, 2000). Por isso, o termo “heterophylla” é considerado adequado para caracterizar a sua morfologia externa. Os diferentes formatos do limbo indicam uma enorme diversidade fenotípica. É importante ressaltar que a acentuada heterofilia tem dificultado estudos taxonômicos e existem controvérsias quanto à definição das características e classificação botânica da espécie (Kissmann & Groth, 1997).

Vasconcelos *et al.* (2000) utilizaram marcadores moleculares RAPD para demonstrar a variabilidade genética em uma população de *E. heterophylla* provenientes de Londrina – Paraná – Brasil, relacionada à morfologia foliar e ramificação do caule. Houve forte relação entre o formato do limbo e a variabilidade genética dessa população, podendo tal característica morfológica ser atribuída à plasticidade fenotípica.

1.2.2. Características morfofisiológicas

As plantas da espécie *E. heterophylla* possuem porte médio de 40 a 60 cm e ciclo reprodutivo curto, sendo possíveis duas a três gerações por ano. Desenvolvem-se bem em qualquer tipo de solo, tendo preferência por solos bem drenados (Cronquist, 1981; Kissmann & Groth, 1997). São classificadas como plantas de dia curto ou DC, tendo floração acelerada em DC, mas que também florescem em dia longo ou DL (Waschowics, 1991; Kigel *et al.*, 1992; Leal, 1995).

De modo geral, *E. heterophylla* apresenta raiz axial bem desenvolvida (Cronquist, 1981; Suda, 2001). O caule é ereto, oco, ramificado e com estômatos. Apresenta feixes vasculares colaterais, drusas de oxalato de cálcio e grãos de amido. Características como

presença de epiderme papilosa e drusas são próprias do gênero. O látex esbranquiçado pode ser observado tanto nas partes florais quanto nas vegetativas (Cronquist, 1981).

As folhas são verdes, simples, alternas, sendo que as superiores apresentam disposição semi-opostas ou opostas. Quanto ao formato, podem ser lanceoladas, obovadas, ovaladas, elípticas ou panduradas (Costa, 1982; Suda, 2001). O bordo é serrilhado a quase inteiro e a presença de tricomas nas superfícies inferior e superior é rara, podendo estar restrita ao bordo. Na base das folhas, ocorrem estípulas glanduliformes (Costa, 1982). O hábito de crescimento e a ramificação são bastante influenciados pela luminosidade (Kissmann & Groth, 1997).

Na axila das duas últimas folhas, desenvolve-se uma ramificação dicotômica, onde são formadas inflorescências principais, chamadas ciátio. Cerca de 30 a 40 flores masculinas dispõem-se ao redor de uma única flor feminina (Cronquist, 1981, Costa, 1982; Kissmann & Groth, 1997).

Em um estudo anatômico das folhas de *E. heterophylla*, Ferreira *et al.* (2003) observaram um alto teor de cera epicuticular, elevada densidade de vasos laticíferos e grande espessura da cutícula da face adaxial. Os autores acreditam que tais características possam constituir barreiras foliares à penetração de agroquímicos, dificultando o controle da espécie por meio de herbicidas.

A reprodução é exclusiva por sementes, oriunda tanto de autofecundação como fecundação cruzada (Cronquist, 1981; Barroso, 1991). Após a fecundação, o pedicelo se alonga, tornando o fruto pendente para fora do receptáculo. O fruto é capsular e trilobular, com uma semente por lóculo (Suda, 2001). Com o amadurecimento, ocorre alteração da coloração do fruto (Barroso, 1991) e a cápsula se rompe, explosivamente, lançando as sementes para locais distantes da planta-mãe (Suda, 2001). A maturação dos frutos numa só planta não ocorre simultaneamente, o que possibilita a produção de sementes por um longo período (Costa, 1982; Kissmann & Groth, 1997). Cada planta produz grande quantidade de sementes (Suda, 2001), aumentando seu potencial de competição com outras espécies vegetais (Costa, 1982).

A germinação de *E. heterophylla* é epígea e os cotilédones são membranáceos, opostos, glabros, de forma elíptica ou lanceolada (Suda & Pereira, 1997). A semente é ovóide e uma das extremidades é aguda, sendo a outra truncada e um pouco côncava. Apresenta cerca de 2,5 a 2,9 mm de comprimento e 2,1 a 2,5 mm de largura. O tegumento é áspero e varia de marrom-claro a negro. São observadas células mucilaginosas que aparecem como protuberâncias verruciformes, dispostas de forma irregular (Suda, 2001).

Temperaturas de 25 a 35°C estimulam a germinação de suas sementes (Kissmann & Groth, 1997). Sementes obtidas na primavera não necessitam de luz para germinar. Quando as sementes são produzidas no inverno, outono ou verão, a germinação é promovida pela luz (Suda & Pereira, 1997). Sob condições de alternância de temperatura (25 e 35°C), as sementes não necessitam de luz para germinar e as porcentagens de germinação são próximas de 100%. Quando submetidas à temperatura constante (25 ou 35°C), a germinação das sementes ocorre independentemente da presença de luz (Suda, 1991).

A possibilidade de *E. heterophylla* germinar em condições ambientais diversas auxilia na sua ampla distribuição geográfica (Suda, 2001). Suas sementes tendem a conservar o poder germinativo por muitos anos e podem passar intactas pelo trato digestivo de animais, como as aves (Lorenzi, 2000).

As sementes de *E. heterophylla* podem ou não apresentar dormência. No Brasil, sementes recém-colhidas nos Estados de São Paulo e Rio Grande do Sul não apresentam dormência (Suda & Pereira, 1997). Mas nos Estados Unidos, sementes recém colhidas mostraram-se dormentes (Bannon *et al.*, 1978). A dormência pode estar relacionada à presença de substâncias insolúveis em água, pois Suda & Giorgini (2000) analisaram a composição e a mobilização de reservas presentes nas sementes de *E. heterophylla* e verificaram que os lipídios constituem em torno de 59% da massa seca das sementes, sendo o principal material de reserva.

1.2.3. Importância econômica e resistência aos herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS)

Muitas plantas do gênero *Euphorbia*, como é o caso de *E. heterophylla*, produzem látex contendo substâncias carcinogênicas (Biesboer & Mahlberg, 1981). O óleo presente na semente apresenta utilidades industriais, como óleo secante (Earle *et al.*, 1960) e matéria-prima na elaboração de tinta e verniz, além de apresentar potencial medicinal (Silva & Salatino, 1999). Na Nigéria, suas folhas são utilizadas como purgativo, cuja ação farmacológica foi comprovada por Akubue *et al.* (1983).

Embora apresente utilidade como matéria-prima, *E. heterophylla* é uma planta invasora bastante agressiva e prejudicial às lavouras, causando sensíveis perdas no rendimento comercial. No Rio Grande do Sul, é uma das principais plantas invasoras da cultura de soja, ocorrendo, também, nos Estados de Santa Catarina e Paraná (Gazziero, 1980).

A espécie *E. heterophylla* apresenta crescimento rápido, podendo formar uma densa cobertura sobre as plantas cultivadas (Wilson, 1981; Kissmann & Groth, 1997). No caso das culturas de soja e amendoim, as perdas chegam a 50% (Willard & Griffin, 1993; Costa, 1982). Na cultura de soja, a espécie também interfere na eficiência da colheita e qualidade das sementes colhidas, pois acarreta aumento do teor de umidade dos grãos (Pinto & Panizzi, 1994).

E. heterophylla é hospedeira alternativa para o percevejo marrom, *Euschistus heros*, um inseto extremamente danoso à soja (Pinto & Panizzi, 1994). A espécie também é considerada hospedeira adicional e reservatório do fungo *Diaporthe phaseolorum*, causador do cancro da haste da soja (Garrido & Dhingra, 1997).

A emergência de *E. heterophylla* como um problema agrícola tem sido o resultado de alterações de práticas de cultivo, especialmente o uso de controle químico (Deuber, 1992; Fornarolli *et al.*, 2002). Embora o manejo de plantas daninhas possa ser efetuado por diversos métodos (Deuber, 1992; Burnside, 1992; EMBRAPA, 1999), a espécie é de difícil controle e para evitar perdas de produtividade, são necessárias repetidas aplicações, bem como combinações de vários herbicidas (Willard & Griffin, 1993).

Borgo & Rosito (1978) testaram herbicidas pré- e pós-emergentes e não obtiveram um resultado efetivo no controle de *E. heterophylla*. Nos Estados Unidos, segundo Costa (1982), os diferentes programas de controle também não têm tido sucesso e um dos fatores que determinam problemas no manejo da espécie é a existência contínua de sementes em processo de germinação, visto que a maturação dos seus frutos e a conseqüente liberação de suas sementes por uma única planta ocorrem continuamente, durante o seu ciclo de vida.

Relatos de resistência aos herbicidas inibidores da enzima ALS vêm se acentuando desde a década de 90 (Heap, 1997). A enzima ALS, também chamada de acetohidroxibutirato (AHAS), é a primeira enzima a agir na rota de síntese dos aminoácidos valina, leucina e isoleucina. Os herbicidas que atuam nessa enzima distribuem-se em cinco grupos químicos, ou seja, imidazolinonas, sulfoniluréias, sulfonanilidas, pirimidiniloxi-benzoatos e sulfonilaminocarboniltriazolinonas (Vidal & Merotto Jr., 2001), como chlorimuron-ethyl, etoxysulfuron, metsulfuron-methyl, flazasulfuron, pirasulfuron-ethyl, halosulfuron, nicosulfuron, oxasulfuron, foramsulfuron + iodossulfuron, imazamox, imazethapyr, omazapic, imazaquin, imazapir, flumetsulam, diclosulam, chloransulan-methyl, pyriithiobac-sodium, bispyribac-sodium (Carvalho, 2004).

O primeiro caso de biótipos de *E. heterophylla* resistentes aos herbicidas inibidores da ALS foi relatado por Vidal & Fleck (1997). Os autores analisaram uma

população proveniente da região das Missões, Rio Grande do Sul, onde herbicidas do grupo das imidazolinonas eram utilizados há mais de cinco anos no controle de *E. heterophylla*.

No Brasil, já foram constatados casos de resistência de plantas da espécie *E. heterophylla*. Cinco populações resistentes presentes nas regiões oeste e sudeste do Estado do Paraná foram estudadas através de marcadores RAPD. 96 *locus* foram identificados, dentre os quais, 80% apresentaram-se polimórficos. A análise genética permitiu observar que populações resistentes de *E. heterophylla* estão amplamente distribuídas no Paraná e que existem graus diferentes de resistência entre os biótipos analisados, das diferentes regiões (Winkler & Vidal, 2004).

Segundo Fornarolli *et al.* (2002), *E. heterophylla* é resistente a muitos herbicidas que inibem a enzima ALS. É possível que biótipos de *E. heterophylla* também sejam resistentes aos herbicidas do grupo das S-triazinas e derivados de uréia, herbicidas que interferem na cadeia transportadora de elétrons durante a fotossíntese (Moreland, 1980; Vidal, 1997). Existem biótipos de *E. heterophylla* com diferentes níveis de resistência aos herbicidas chlorimuron-ethyl, imazethapyr, sulfentrazone e lactofen, demonstrando resistência cruzada aos inibidores da ALS (Gazziero *et al.*, 1998; Gelmini *et al.*, 2001).

A resistência de *E. heterophylla* ao herbicida imazethapyr se deve à modificação estrutural que ocorre na ALS, impedindo a ligação enzima-herbicida e, dessa forma, não ocorrem diferenças na absorção, translocação ou metabolismo do herbicida nos biótipos resistentes e suscetíveis (Vargas *et al.*, 1999).

Ao analisarem a atividade da ALS em biótipos de *E. heterophylla* provenientes da UFRGS - Brasil, Oliveira *et al.* (2002) observaram que as plantas resistentes apresentam nível de resistência 142 vezes maior que as plantas suscetíveis. Foi verificada, também, uma variabilidade da atividade da ALS na presença do herbicida imazaquin, sugerindo a existência de diferentes graus de resistência dos biótipos resistentes ao herbicida.

Embora trabalhos visando o controle químico tenham sido realizados, é escassa a literatura existente sobre a resistência de *E. heterophylla* aos herbicidas e pouco se conhece sobre a sua biologia, dificultando o controle da espécie (Costa, 1982).

1.2.4. Aspectos citogenéticos

Os estudos da morfologia e do número de cromossomos têm contribuído muito para a compreensão sobre os aspectos evolutivos de espécies de plantas (Sybenga, 1992). Alterações cariotípicas podem ocorrer e quando envolvem o número cromossômico diplóide, são chamadas de rearranjos quantitativos ou numéricos (Schubert *et al.*, 1992) e, ao alterar

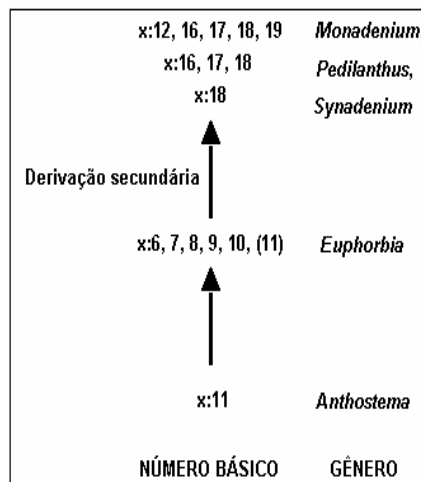
a morfologia dos cromossomos, são conhecidas como alterações cromossômicas qualitativas ou estruturais (Giannoni & Lui, 1988).

Os rearranjos cromossômicos podem ser formados tanto em células somáticas quanto em gametas, espontaneamente ou de forma induzida, através de radiações ionizantes ou agentes mutagênicos (Sybenga, 1992).

Em muitos gêneros e famílias de plantas superiores, são encontradas trocas no número básico, sem promover a multiplicação do conjunto cromossômico ou de cromossomos individuais (Stebbins, 1950). Mas em 70% das angiospermas, ocorre o aumento do número de cromossomos ou poliploidia, sendo considerado um dos mecanismos citogenéticos mais importantes e comuns na evolução de plantas (Ohri, 1998).

O conhecimento sobre o número cromossômico em Euphorbiaceae tem sido limitado. Até 1975, apenas 6% das espécies tiveram seus cromossomos contados e muitas dessas contagens, basearam-se em estudos de uma única população por espécie. A família Euphorbiaceae apresenta dois números básicos ($x=7$ e $x=13$), com origens independentes. O número básico original da maioria da tribo Euphorbieae deve ser $x=11$ e cerca de 48% das espécies são poliplóides (Hans, 1973).

O diagrama a seguir demonstra a provável evolução cromossômica na tribo Euphorbieae, que engloba, dentre outros, o gênero *Euphorbia* (Hans, 1973).



Na família Euphorbiaceae, alterações no número de cromossomos são muito comuns. Diversos autores têm relatado que o gênero *Euphorbia* apresenta vários números básicos de cromossomos, como $x=6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 15, 19$ (Darlington & Wyle, 1955; Löve, 1984). Segundo Sharma (1970), os números básicos encontrados no gênero variam de $x=10$ (29,900%), $x=7$ (23,534%), $x=9$ (16,646%), $x=8$ (16,359%), $x=6$ (9,184%), $x=13$

(2,296%), $x=11$ (2,009%), $x=19$ (0,574%), $x=17$ (0,287%) a $x=5$ (0,287%). No gênero *Euphorbia*, a alteração do número de cromossomos tem sido freqüente, onde a poliploidia é o tipo mais comum e ocorre em 40,73% das espécies (Stahevitch *et al.*, 1988).

Ao realizarem uma revisão sobre *E. cyparissias*, Stahevitch *et al.* (1988) observaram que plantas diplóides ($2n=2x=20$) presentes na América do Norte são estéreis e que as plantas tetraplóides dessa região é que são férteis ($2n=4x=40$). Contudo, a mesma espécie observada no continente europeu apresenta plantas diplóides e tetraplóides férteis.

Em uma análise cromossômica de *E. clandestina*, o número básico de cromossomos observado foi $x=17$. Não sendo esse número, um múltiplo de nenhum dos números básicos propostos para o gênero, foi considerado que a espécie apresenta um número básico derivado. Como não foram observadas aneuploidias e nem duplicações cromossômicas, suspeita-se que esse realmente seja um número básico cromossômico novo para o gênero. Entretanto, a hipótese de existência de cromossomos B não foi descartada. Suspeita-se que *E. clandestina* tenha sido originada da hibridação de duas espécies, uma com $x=7$ e outra com $x=10$ (Stebbins, 1950).

Vosa & Bassi (1991) realizaram um estudo cariotípico de oito espécies de *Euphorbia* e observaram que todas as espécies analisadas apresentam número cromossômico de $2n=20$, mas que existem diferenças consideráveis na morfologia cromossômica. Tais diferenças incluem número de cromossomos acrocêntricos e metacêntricos e posição da região organizadora nucleolar.

Srivastava *et al.* (1987) realizarem, pela primeira vez, análises citogenéticas de *E. clandestina*. Foram observadas células haplóides com 17 cromossomos, cuja divisão meiótica mostrou-se normal. Devido a essas observações, os autores concluíram que essa espécie apresenta plantas diplóides normais, pois sementes e pólen viáveis foram obtidos.

E. heterophylla é uma planta tetraplóide, com $2n=28$ cromossomos e número básico de $x=7$. Todavia, outros números cromossômicos para a espécie foram considerados, como $n=28$, $2n=14$, 26, 32, 56 (Hans, 1973, Kissmann & Groth, 1997 & Vargas *et al.*, 1999). Quando uma espécie apresenta populações com mais de um número cromossômico, diz-se que a espécie possui citotipos diferentes (Guerra, 1988). As espécies *E. prunifolia* e *Poinsettia heterophylla*, são utilizadas, erroneamente, como sinonímia para *E. heterophylla*, já que apresentam, respectivamente, $2n=16$ e $2n=14$ cromossomos (Costa, 1982).

1.3. Justificativa

Estudos genéticos e de adaptação de plantas a situações de estresse ambiental são cada vez mais necessários, visto que a rápida expansão humana e sua crescente necessidade por recursos naturais têm alterado a sobrevivência de vegetais e animais.

A citogenética tem proporcionado a caracterização de cromossomos de plantas, bem como o levantamento de alterações cromossômicas numéricas e, ou estruturais, que podem ser atribuídas a processos evolutivos ou ao uso de substâncias utilizadas no combate a pragas e doenças. Dessa forma, dados citogenéticos tornaram-se valiosas ferramentas para a ecologia, taxonomia, evolução, conservação e o melhoramento de plantas. A avaliação genética, bem como da adaptação de indivíduos diante de pressões ambientais, têm proporcionado a integração entre dados genéticos e ecológicos e, conseqüentemente, uma visão global da estrutura e do comportamento de populações de plantas poderá ser obtida.

A utilização de dados morfofisiológicos em programas de melhoramento e conservação de plantas tem possibilitado a caracterização, reprodução e preservação de patrimônios genéticos que poderiam ser alterados por hibridações ou introdução de fatores comprometedores da viabilidade de populações já existentes.

As plantas daninhas são consideradas vegetais que se desenvolvem em locais indesejados pela espécie humana. Quando crescem conjuntamente com culturas agrícolas, competem por recursos ambientais, como água, luz, gás carbônico e nutrientes. Estima-se que, no Brasil, as perdas de lavouras ocasionadas por ação dessas plantas cheguem a 30%. Contudo, as plantas daninhas podem auxiliar o agricultor, gerando biomassa protetora e ciclando nutrientes do solo.

Análises sobre a biologia das espécies em associação às culturas agrícolas podem favorecer a composição de sistemas produtivos. A convivência entre as cultivares e plantas daninhas permitem o aperfeiçoamento do manejo integrado e, conseqüentemente, a exploração agropecuária em equilíbrio com o ambiente.

Estudos sobre as alterações ambientais e a seleção de espécies vegetais demonstram que o controle das plantas daninhas poderá tornar-se um grave problema e gerar impactos negativos sobre a produtividade agrícola. Com o aquecimento global, por exemplo, suspeita-se que ocorra prevalência das plantas daninhas de ciclo curto e a conseqüente ineficiência de muitos dos atuais herbicidas utilizados na agricultura.

Sendo assim, o interesse de estudar *Euphorbia heterophylla* (Euphorbiaceae) advém do fato de ser uma planta daninha de crescimento rápido e que, dessa forma, é altamente competitiva com as plantas cultivadas. O controle da espécie tem sido realizado, quimicamente, por herbicidas, que podem acarretar efeitos citológicos e adaptativos, tanto nas plantas daninhas, quanto nas culturas invadidas. Ainda, *E. heterophylla* tem sido pouco estudada, genética e ecologicamente. As informações citogenéticas da espécie obtidas na literatura baseiam-se apenas na contagem do número cromossômico, algumas vezes questionáveis. Estudos da caracterização de populações resistentes ou suscetíveis aos herbicidas têm sido escassos, o que dificulta o controle de *E. heterophylla* por métodos biológicos naturais. Assim, dados da arquitetura cromossômica e morfofisiologia da planta poderão contribuir para a compreensão dos mecanismos genéticos de evolução e comportamentais, bem como para programas de melhoramento genético e manejo da espécie.

1.4. Objetivo geral

Em virtude da importância econômica que *E. heterophylla* representa para a agricultura brasileira, objetivou-se: realizar análises do número e da morfologia de seus cromossomos; verificar se os dados numéricos e estruturais dos cromossomos auxiliam na compreensão dos aspectos carioevolutivos da espécie; avaliar, comparativamente, os biótipos suscetíveis e resistentes aos herbicidas inibidores da ALS, quanto à(ao): germinação, dormência e viabilidade de sementes; crescimento das folhas e plantas após a aplicação de chlorimuron-ethyl.

2. CAPÍTULOS

2.1. CAPÍTULO 1

Esse capítulo, intitulado como “Chromosome number and cytogenetics of *Euphorbia heterophylla* L.”, foi submetido à publicação na Revista Genetic and Molecular Research.

2.1.1. INTRODUCTION

The emergence of many invasive plants has been related to human induced selection often shaped by anthropic environments and/or by several habitat disturbances. Plants that occupy cultivated areas adapt to the new environmental conditions and become invasive, undesirable for the man (Gupta & Tsuchiya, 1991).

The control of invasive plants has been done, mainly, by herbicides due to the efficiency of such chemical products (Christoffoleti, 1997). However, the constant use of a herbicide or different herbicides with the same mechanism of action has exerted a high selective pressure, increasing the selection of resistant plants (Holt & Le Baron, 1990). This is the case of *Euphorbia heterophylla* L. (Euphorbiaceae), one of the most important invasive species of soy and many others cultures in Brazil (Willard & Griffin, 1993). About ten *E. heterophylla* L. plants in one m² can reduce 7% in grain yield of the culture (Chemale & Fleck, 1997).

Although several studies dealing with chemical control of *E. heterophylla* have been done, little is known about the cytogenetic aspects of this species (Costa, 1982). The species may show $2n=14, 26, 28, 32$ or 56 chromosomes (Hans, 1973; Kissmann & Groth, 1997). Suda (2001) argued that the species is a tetraploid, with basic number of $x=7$ chromosomes.

The karyotypic description, such as morphology and number of chromosomes, is of great value for the understanding of the evolutionary processes of a species (Gupta & Tsuchiya, 1991). Among the most important morphological aspects, chromosome size, localization of the primary constriction and, when present, the secondary constriction are the main ones (Sybenga, 1992).

Some mechanisms have been identified as responsible for the evolution of plants; among them, structural chromosomal changes and polyploidy (Narayan, 1998). Such

chromosomal modifications can occur spontaneously or by induction both in somatic cells and, or in gametes (Sybenga, 1992).

Polyploidy, or genomic multiplication, is a common and continuous phenomenon in evolution of plants (Adams & Wendel, 2005), and about 70% of the angiosperms are polyploids (Leitch & Bennet, 1997). In general, polyploids are good colonizers (De Wet, 1980) and some invasive species can be considered as such, since they exhibit fast chromosomal evolution events (Reznick & Ghalambor, 2001). Also, the genomic reorganization and chromosomal repatterning that occur in polyploids (Schifino-Wittmann, 2004) can modify their tolerance to the environment (Lee, 2002).

Considering the economical loss that *E. heterophylla* has on cultivated plants, the scarce data referring to its mitotic cellular cycle and the need to gain genetic knowledge that may help in its reproductive control, the objective of this study was to analyze the number and morphology of chromosomes, as well as the behavior of the mitotic chromosomes of this species.

2.1.2. MATERIALS AND METHODS

Seeds of *E. heterophylla* were collected from 40 plants, from different cultivated areas of Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brazil. About 500 seeds were randomly selected from the original pool of seeds and germinated in *gerbox*, containing *germtest* paper moist with distilled water. The seeds that had 0.5 to 1.0 cm long roots were submitted to four types of pre-treatments: 1) 0.5% colchicin for 2 to 5 hours, at room temperature; 2) 0.5% colchicin for 16 to 24 hours, at 4°C; 3) 0.0029 M 8-Hydroxyquinoline for 2 to 5 hours, at room temperature; 4) 0.0029 M 8-Hydroxyquinoline for 16 to 24 hours, at 4°C. Next, roots were washed in distilled water for 5 minutes. They were immediately fixed, in a solution previously cooled at -20°C. The fixer solution was a methanol-acetic acid solution mixed in a 3:1 (V/V) proportion. Roots were stored in the fixer solution at -20°C for 24 hours.

The enzymatic maceration was done in 1.5 mL Eppendorf™ tubes containing a solution of the enzymatic compound Flaxzyme™ (NOVO FERMENT™) and distilled water 1:40 (V/V) for 2 hours at 34°C. Roots were washed for removal of the enzymatic solution and the digested material was stored at -20°C for 24 hours in Eppendorf™ tubes containing the fixer solution.

Roots were transferred to a glass plate containing 1mL of fixer and the apical meristem of each root was extracted and fragmented in a glass slide at an angle of approximately 30°, with the use of a surgical knife and a stereomicroscope. Chromosomal

preparations were done by cellular dissociation of apical meristems, by adding three to five drops of fixer at -20°C. The slides were air dried with fast movements and, then let dry, on a hot plate at 50°C. Staining of the slides was done with a 5% Giemsa solution, in phosphate buffer pH 6.8, for 15 minutes at room temperature. Finally, the slides were washed in distilled water and dried in a hot plate at 50°C.

2.1.3. RESULTS AND DISCUSSION

The analysis of 500 somatic cells of *E. heterophylla* indicated that the species exhibits $2n=28$ chromosomes (Figure 1). This same chromosomal number has been also cited by Hans (1973) and Kissmann & Groth (1997). $x=7$ is one of the basic numbers of chromosomes found in the genus *Euphorbia* (Löve, 1984), suggesting, that the species is indeed tetraploid (Suda, 2001).

In metaphasic cells, it was observed that the largest chromosome pair of the complement (pair number 1) exhibits a secondary constriction or nucleolar organizing region (NOR), located at the short arm (Figure 1); and, at the interphase, one nucleolus was identified per cell (Figure 2).

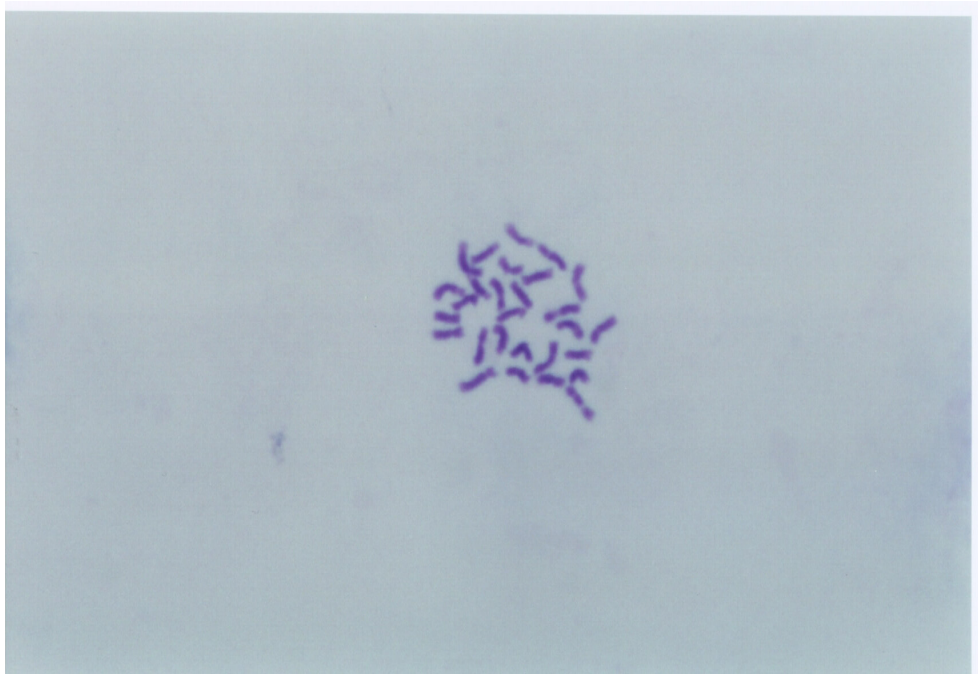


FIGURE 1 – Metaphasic chromosomes of *Euphorbia heterophylla* L. treated with 8-HQ at 0.0029M, for 21h30min in 4°C.

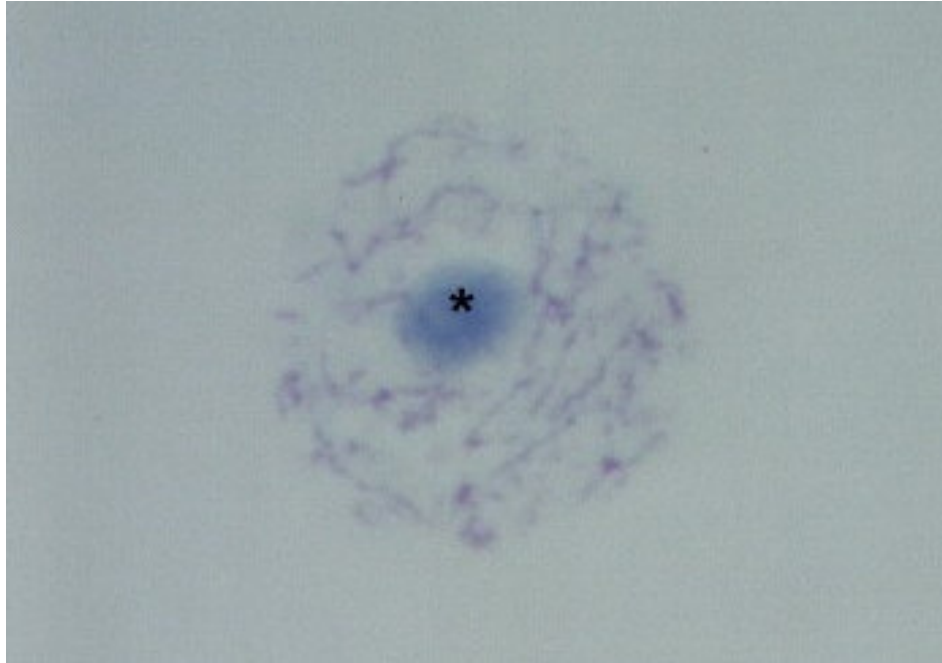


FIGURE 2 – Interphasic cell of *Euphorbia heterophylla* L. Note nucleolus distincted with Giemsa (asterisk).

The number of NORs and nucleoli found in *E. heterophylla* can be considered characteristic of polyploidy. Generally, polyploids present less visible NORs in the chromosome set than the expected by the sum of the diploid genomes (Vaughan *et al.*, 1993). A reduction in the number of NORs and nucleoli during polyploidization of *Scilla autumnalis* was reported by Vaughan *et al.* (1993) that also argued the reduction in the expression of NORs may be the result of nucleolar suppression.

The root meristematic cells of *E. heterophylla* L. submitted to 0.5% colchicin and 0.00029 M 8-Hydroxyquinoline (8-HQ) for 21h and 30min at 4°C allowed to obtain mitotic metaphasic chromosomes. However, with the 8-HQ solution, better performances were seen in relation to colchicin, since chromosomes pre-treated with this drug were more compacted (Figure 3) than those treated with 8-HQ (Figure 1).

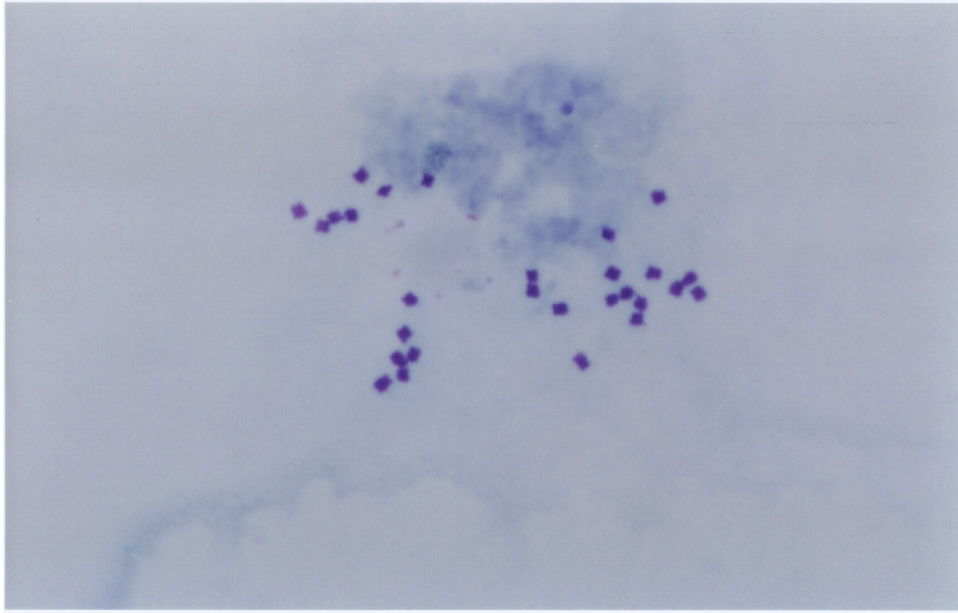


FIGURE 3 – Metaphasic chromosomes of *Euphorbia heterophylla* L. treated with colchicin at 0.5%, for 21h30min in 4°C.

Although colchicin is extensively utilized in cytogenetic studies (e.g. Hadlaczky *et al.*, 1983; Sharma & Sharma, 1999), the drug makes the identification of the chromosomes secondary constrictions difficult. According to Singh (1993), 8-HQ is very useful in chromosomal analyses because they allow a good visualization of the secondary constrictions. In addition to allow a better packing of chromosomes, colchicin also tends to induce chromosomal agglomerations, which is very pronounced after longer treatments (Wang *et al.*, 1986). Such agglomerative effect has not been observed in *E. heterophylla*. Nonetheless, the absence of superposed chromosomes can be the result of the cellular dissociation techniques and air-drying since, with both techniques slides with well spread chromosomes can be obtained (See Carvalho & Saraiva, 1997).

In about 1% of the analyzed metaphases, chromosomal figures suggestive of structural rearrangements in the genome of *E. heterophylla* were observed (Figure 4).

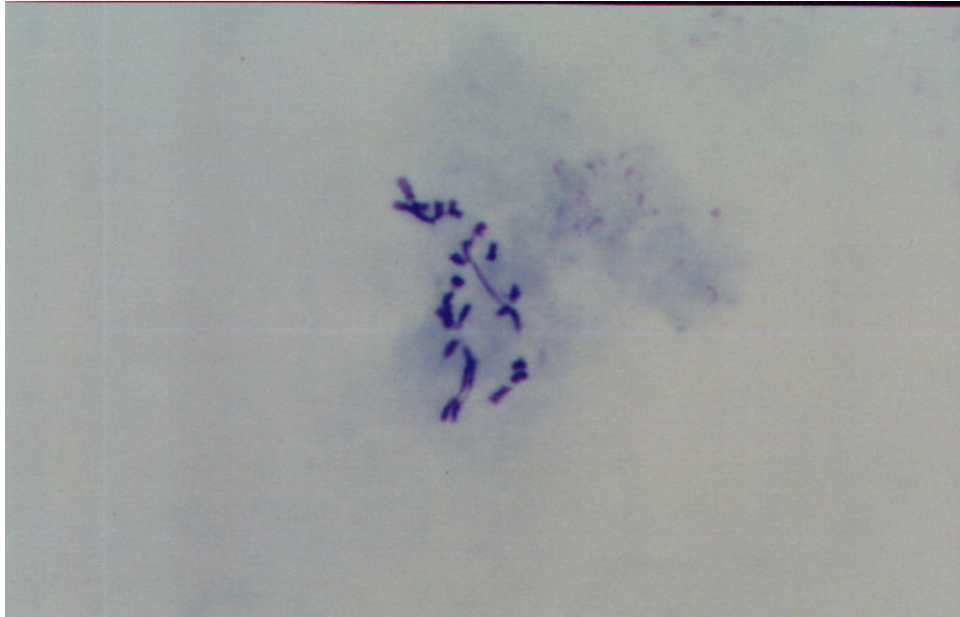


FIGURE 4 – Metaphasic chromosomes of *Euphorbia heterophylla* L. treated with 8-HQ at 0.0029M, for 21h30min in 4°C.

Since the species is considered tetraploid, chromosomal rearrangements can rise as a consequence of polyploidization (Schifino-Wittmann, 2004). However, the karyotype dynamics hypothesis in *E. heterophylla* L. due to the use of herbicides cannot be discarded, since, according to Christoffoleti *et al.* (1994), disturbances caused by man in agriculture can trigger the evolution of invasive plants.

Pagliarini (2000) has analyzed gametic cells of several economically important plants including *E. heterophylla* but did not report chromosomal rearrangement event in this species. The differences between the results on chromosomal rearrangements presented in this study and those of Pagliarini (2000) may have occurred due to the analysis of different populations of *E. heterophylla*.

2.1.4. CONCLUSION

In summary, the 0.0029 M 8-HQ solution for 21h and 30min was efficient for obtaining *E. heterophylla* metaphases, since it allowed the visualization of less compacted metaphasic chromosomes and its secondary constrictions. The species exhibits $2n=28$ chromosomes and one chromosome pair, number 1, with secondary constriction, in the metaphase, and one nucleolus in each interphasic cell. The observation of chromosomal structural rearrangements allowed to evaluate the importance of these events in the natural evolution of *E. heterophylla*, or as consequence of the selective pressure because of the use of herbicides. Future studies will clarify the evolutionary aspects of the karyotype of this species.

2.2. CAPÍTULO 2

Esse capítulo, intitulado como “Germinação de sementes de *Euphorbia heterophylla* (Euphorbiaceae) suscetíveis e resistentes aos herbicidas inibidores da ALS após tratamentos pré-germinativos”, foi submetido à publicação na Revista Acta Botânica Brasílica.

2.2.1. INTRODUÇÃO

Euphorbia heterophylla (Euphorbiaceae), nativa de regiões tropicais e subtropicais das Américas (Wilson, 1981), é uma planta invasora de grande importância econômica, pois apresenta crescimento rápido e forma densa cobertura sobre as plantas cultivadas (Kissmann & Groth, 1997). É uma espécie muito freqüente em todo o Brasil (Kissmann & Groth, 1997) e, em plantações de soja, cada dez plantas de *E. heterophylla*/m² reduz em 7% o rendimento de grãos (Chemale & Fleck, 1997).

O surgimento de *E. heterophylla* como um problema agrícola tem sido o resultado de alterações de práticas de cultivo. O uso de controle químico com herbicidas (Deuber, 1992) tem afetado a resistência da planta aos herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase ou ALS (Gelmini *et al.*, 2001). Embora os mecanismos e processos orgânicos envolvidos na resistência de plantas a herbicidas sejam ainda pouco conhecidos, eles são fundamentais para prevenir e retardar o surgimento de novas plantas resistentes (Christoffoleti & Ovejero, 2004). Estudos sobre as diferentes estratégias de sobrevivência entre plantas suscetíveis e resistentes (Vila-Aiub *et al.*, 2005) e análise de características bioecológicas que favoreçam a seleção de biótipos resistentes são indispensáveis ao manejo das plantas invasoras (Christoffoleti & Ovejero, 2004). Não obstante a importância econômica e a realização de estudos sobre o controle químico de *E. heterophylla* (Costa, 1982), pouco se conhece sobre o desenvolvimento e a capacidade germinativa de suas sementes.

Um dos fatores que dificultam o manejo desta espécie é a existência contínua de sementes em germinação no banco de sementes (Costa, 1982). A maturação dos frutos em uma única planta não acontece simultaneamente, sendo possível a ocorrência de duas a três gerações por ano (Kissmann & Groth, 1997). As sementes são duras, ásperas (Kissmann & Groth, 1997) e, quando armazenadas, apresentam dormência (Brasil, 1992; Kissmann & Groth, 1997).

A dificuldade de germinação ou dormência em sementes ocorre por diferentes mecanismos, variando segundo a espécie (Costa *et al.*, 2005) e é uma característica hereditária (Carvalho & Nakagawa, 1980). No caso de *E. heterophylla*, o tegumento possui células mucilaginosas ao redor da semente, que podem constituir uma barreira para entrada de água e oxigênio (Suda & Pereira, 1997).

A análise de mecanismos para a superação da dormência é útil na avaliação da qualidade fisiológica das sementes (Martins & Da Silva, 1998). Diversos métodos têm sido utilizados em laboratório (Eira *et al.*, 1993) e uma alternativa é o uso de tratamentos pré-germinativos químicos (Smiderle & De Sousa, 2003), térmicos (Costa *et al.*, 2005) ou testes de iluminação (Brasil, 1992). Contudo, alguns tratamentos podem acarretar em prejuízo nas taxas de germinação (Kaye, 1997). Segundo Eira *et al.* (1993), além de eficaz na superação da dormência, o tratamento também deve ter baixo custo e praticidade.

Estudos sobre metodologias eficientes de superação da dormência e a obtenção de germinação mais rápida e uniforme das sementes de *E. heterophylla* são de importância fundamental para a ampliação do conhecimento sobre a biologia, dinâmica de bancos de sementes, manejo e controle dessa espécie, bem como para analisar a ação de herbicidas. Nesse estudo, foi avaliada a dormência de sementes em armazenamento, a existência de germinação diferencial das sementes dos biótipos suscetíveis e resistentes aos herbicidas inibidores da ALS, bem como os efeitos de tratamentos pré-germinativos químicos, térmicos e de iluminação entre tais de *E. heterophylla*.

2.2.2. MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de *E. heterophylla* suscetíveis e resistentes aos herbicidas inibidores da ALS foram coletadas na Coamo Agroindustrial Cooperativa, Campos Mourão – Paraná, Brasil, em regiões de cultivo de soja. O estudo experimental foi conduzido no Laboratório de Manejo de Plantas Daninhas e Dinâmica de Herbicidas, localizado na EMBRAPA Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, M.G.

As sementes de biótipos suscetíveis e resistentes foram acondicionadas individualmente, em envelopes de armazenamento, à temperatura de 25°C. Após um ano de estocagem, algumas sementes foram semeadas em vasos (uma semente por vaso) com capacidade para 1 litro, contendo como substrato, latosolo vermelho com textura argilosa e mantidas em casa-de-vegetação à 30°C, até a obtenção de novas sementes. As sementes de cada planta foram coletadas e armazenadas, separadamente, de outubro a dezembro, sob condições ambientais.

Para pré-tratamento das sementes resistentes e suscetíveis, foram realizadas imersões em: água destilada a 80°C, por 5 minutos – Tratamento 1; água destilada a 80°C,

por 5 minutos, seguida de água destilada a 13°C, por 1 minuto – Tratamento 2; água destilada à temperatura ambiente, por 24 horas – Tratamento 3; álcool etílico 95%, por 5 minutos – Tratamento 4; acetona 95%, por 5 minutos – Tratamento 5; hipoclorito de sódio 10%, por 5 minutos – Tratamento 6; permanência em luz contínua por 24 horas – Tratamento 7; controle, *in natura* – Tratamento 8.

Os testes de germinação foram realizados com 200 sementes por tratamento, em quatro repetições. Após a aplicação dos tratamentos, as sementes foram colocadas para germinar em *gerbox* com duas folhas de papel filtro previamente umedecido com água destilada. As *gerbox* contendo sementes dos tratamentos um a sete foram mantidas em sala de germinação sob regime constante de luminosidade e temperatura (30°C). As sementes do tratamento controle foram mantidas no escuro, a 30°C. As avaliações das sementes germinadas foram realizadas diariamente, até 30 dias após a aplicação dos tratamentos.

Os valores de porcentagens de germinação obtidos de experimentos inteiramente casualizados foram transformados em $\text{ArcSen}\sqrt{x}$. Realizou-se a análise de variância dos dados pelo teste F e, em caso de significância, as médias foram comparadas pelo teste Tukey ($P < 0.05$).

2.2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As taxas de germinação dos biótipos resistente e suscetível, na ausência de luminosidade e tratamentos pré-germinativos foram, respectivamente, de 53,5% e 48,05%, evidenciando que sementes de *E. heterophylla* estocadas por três meses não apresentaram dormência e permaneceram viáveis à germinação (Tabela 1). Esses dados estão em concordância com Suda & Pereira (1997), que relataram que o armazenamento das sementes de *E. heterophylla* por até três meses não interfere no seu potencial germinativo. Apesar de Ray (1984) relatar que os herbicidas inibidores da ALS reduzem a síntese de proteínas, impedem a translocação de carboidratos e paralisam a divisão celular, a germinação do biótipo suscetível de *E. heterophylla* decorreu normalmente. Os biótipos suscetíveis apresentam a mesma adaptabilidade ecológica que os biótipos resistentes aos herbicidas inibidores da ALS, significando os efeitos mínimos do alelo ou alelos que conferem resistência sobre o potencial adaptativo das plantas resistentes (Carvalho, 2004).

TABELA 1 - Porcentagens de germinação de sementes de *Euphorbia heterophylla* submetidas a tratamentos pré-germinativos

Tratamento	% Germinação	
	Resistente	Suscetível

Água 80 °C	78.35 bc A	45.42 ab B
Água 80 °C + 13 °C	67.08 cd A	23.54 c B
Água 24 horas	33.12 ef ns	33.12 bc ns
Álcool etílico	30.62 f B	45.62 ab A
Acetona	64.79 cd ns	62.29 a ns
Hipoclorito de sódio	93.12 a A	53.33 a B
Luz por 24 horas	92.71 ab A	54,79 a B
Controle	53.50 de ns	48.05 ab ns

Médias seguidas por letras minúsculas distintas nas colunas e por letras maiúsculas distintas nas linhas diferem entre si pelo teste Tukey (5% de probabilidade)

A análise da influência dos tratamentos pré-germinativos térmicos demonstrou que o aquecimento a 80 °C estimulou a germinação das sementes resistentes. Resultados diferentes foram obtidos com o biótipo suscetível. A taxa de germinação das sementes suscetíveis aquecidas a 80 °C não diferiu, estatisticamente, das sementes do tratamento controle. A alternância térmica (água a 80 °C + 13 °C) acarretou em prejuízo da germinação das sementes do biótipo suscetível, sendo considerado o pior tratamento para as sementes de tal biótipo (redução da germinação em aproximadamente 49%). A alteração de temperatura pode provocar danos ao embrião, impedindo a germinação das sementes (Alves *et al.*, 2000). Ao que tudo indica, as sementes resistentes toleram melhor as mudanças de temperatura, quando comparadas às sementes suscetíveis. Esses resultados não corroboram com Christoffoleti & Ovejero (2004), que relataram que não existem diferenças no desenvolvimento de ambos os biótipos de *E. heterophylla*.

Houve considerável redução da porcentagem de germinação das sementes do biótipo resistente de *E. heterophylla*, quando imersas em água destilada, por 24 horas. Em algumas plantas, as sementes necessitam ser embebidas por longos períodos em água para que ocorra a germinação, como é o caso de *Strelitzia reginae*. O tratamento de imersão em água a 25 °C aumentou o percentual de germinação e vigor das sementes da espécie (Barbosa *et al.*, 2005). De acordo com Carvalho & Nakagawa (1980), a impermeabilidade do tegumento à água pode retardar a germinação de sementes. É o que ocorre com *E. heterophylla*, pois a produção de mucilagem pelas células do tegumento dificulta a entrada de água e oxigênio na semente (Suda & Pereira, 1997).

O álcool etílico 95% foi o tratamento mais prejudicial à emergência de radículas do biótipo resistente. O mesmo tratamento não alterou a germinação das sementes suscetíveis. A acetona a 95% não alterou a germinação das sementes de ambos os biótipos. Os solventes orgânicos podem alterar estrutural do tegumento, facilitando a germinação das sementes (Toledo & Marcos Filho, 1977), o que não ocorreu com as sementes de *E. heterophylla*.

O tratamento com hipoclorito de sódio 10% aumentou a taxa de germinação das sementes resistentes em 39,62%, sendo a melhor substância e o tratamento mais efetivo para acelerar a germinação do biótipo resistente. Contudo, a substância não proporcionou alterações na taxa de germinação do biótipo suscetível. Por ser um potente agente oxidante, modificar as propriedades das membranas celulares do tegumento, fornecer oxigênio ao embrião (Hsiao & Quick, 1984), o hipoclorito de sódio pode ter estimulado a germinação de algumas sementes de *E. heterophylla*, como é o caso do biótipo resistente.

A taxa de germinação das sementes resistentes de *E. heterophylla* aumentou consideravelmente, quando submetidas à luminosidade contínua. A presença de luz não alterou a germinação das sementes do biótipo suscetível. Esses resultados estão de acordo com Suda & Pereira (1997) e Brasil (1992), que relataram que as sementes de *E. heterophylla* são fotoblásticas positivas.

2.2.4. CONCLUSÃO

A avaliação da germinação de sementes resistentes e suscetíveis de *E. heterophylla*, sob diferentes condições de pré-tratamento, permitiu verificar que:

- A dormência das sementes armazenadas por três meses não foi alterada. Como a diferença entre as porcentagens de germinação de sementes resistentes e suscetíveis ausentes de tratamento não foi significativa, não se pode dizer que existe relação entre biótipo e presença de dormência;
- A necessidade de embebição da semente, por tempo prolongado, para início da germinação não é uma característica das sementes de *E. heterophylla*.
- Os tratamentos pré-germinativos mais eficazes em alterar, positivamente, a porcentagem de germinação do biótipo resistente foram o hipoclorito de sódio e a luz contínua;
- Entre os tratamentos pré-germinativos utilizados, nenhum foi o suficiente para acelerar a germinação do biótipo suscetível;
- Houve aumento da porcentagem de germinação de sementes do biótipo resistente submetidas ao tratamento térmico a 80°C. O mesmo tratamento não facilitou a emergência de radículas das sementes suscetíveis. Dessa forma, sugere-se que

as sementes de plantas suscetíveis sejam menos sensíveis ao aumento de temperatura do que as sementes de plantas resistentes;

- O álcool etílico 95%, por 5 minutos, proporcionou prejuízo da germinação de sementes resistentes, sugerindo que a substância pode provocar danos ao embrião;
- As diferenças de germinação encontradas entre os biótipos resistente e suscetível submetidas aos diferentes tratamentos podem ser o resultado de alterações fisiológicas provocadas pelo fator resistência, visto que ambos os biótipos apresentam mesma origem e foram submetidas a condições similares de armazenamento e germinação.

Estudos sobre a germinação diferencial de sementes têm-se tornado importantes na atualidade, visto ao impacto que as plantas daninhas proporcionam na agricultura e pecuária. A invasão por espécies daninhas pode conduzir a mudanças drásticas no funcionamento e estrutura de ecossistemas, através da redução na riqueza de espécies, modificando a qualidade dos solos e processos geomorfológicos (Mack *et al.*, 2000). Na tentativa de limitar o impacto de plantas daninhas nos habitats naturais ou transformados pelo homem, é necessário entender os principais mecanismos que permitem as plantas tornarem-se daninhas (Blossey & Nötzold, 1995).

2.3. CAPÍTULO 3

Esse capítulo, intitulado como “Análise da viabilidade de sementes de *Euphorbia heterophylla*”, foi submetido à publicação na Revista Planta Daninha.

2.3.1. INTRODUÇÃO

As plantas daninhas são caracterizadas por produzirem sementes com alta produtividade, viabilidade elevada e mecanismos de dormência das sementes (Baker, 1974). As plantas daninhas germinam espontaneamente em áreas de atividades agrícolas,

provocando impactos negativos sobre o rendimento das plantas cultivadas (Blanco, 1972) e representando elevados custos em seu controle. Produtos químicos, como herbicidas, têm sido a principal alternativa de controle das plantas daninhas (Christoffoleti, 2004).

A resistência aos herbicidas é um mecanismo de resposta evolutiva plantas daninhas (Monquero & Christoffoleti, 2001), que está intimamente relacionada ao aumento da variabilidade genética desta população de plantas, em decorrência da pressão de seleção causada pelo uso repetitivo de herbicidas com o mesmo princípio ativo. Esta pressão de seleção satisfatória tem proporcionado a sobrevivência de genótipos de plantas daninhas em condições ambientais diversas (Christoffoleti & Ovejero, 2004).

A resistência a herbicidas age de forma a permitir a manutenção e reprodução de algumas plantas daninhas (biótipos resistentes), após a exposição à dose de um herbicida que, normalmente, seria letal aos outros indivíduos da mesma espécie (Kissmann, 1996). Os herbicidas que inibem a enzima acetolactato sintase (ALS) impedem a síntese dos aminoácidos leucina e isoleucina, conseqüentemente, induzem à paralisação da divisão celular e o crescimento das plantas daninhas (Kissmann, 2003). No Brasil, foram catalogadas oito espécies de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da ALS (Heap, 2007), dentre elas, *Euphorbia heterophylla* é considerada a espécie mais prejudicial às culturas, devido à sua capacidade de sobrevivência em condições ambientais adversas, como seca, com elevada produção e dispersão de sementes (Trezzi *et al.*, 2006).

Euphorbia heterophylla é uma planta daninha nativa das regiões tropicais e subtropicais das Américas (Kissmann & Groth, 1997), sendo muito encontrada no sudeste, sul e centro-oeste do Brasil (Cronquist, 1981). A espécie apresenta rápido crescimento, alta capacidade reprodutiva e causa perdas consideráveis na produtividade das culturas, de soja, banana, arroz, feijão e milho (Kissmann & Groth, 1997), ocorrendo também em regiões de pastagens e áreas urbanas (Brandão *et al.*, 1995).

A manutenção da viabilidade das sementes de plantas daninhas, após a dispersão, origina bancos de sementes no solo e prováveis reinfestações nas áreas de culturas (Guimarães *et al.*, 2004). A capacidade germinativa de um lote de sementes pode ser avaliada através do teste de germinação (Brasil, 1992), entretanto, sementes dormentes podem ter a sua viabilidade subestimada (Ellis *et al.*, 1985). O teste de tetrazólio se constitui numa alternativa de reforço para a análise da viabilidade e do vigor de sementes, (Grabe, 1976; Brasil, 1992). Este teste se baseia na alteração colorimétrica dos tecidos vivos em presença da solução de tetrazólio, cuja alteração na coloração reflete a ação enzimática de desidrogenases presentes na atividade respiratória das células, que reduzem o tetrazólio a Formazan, que é um produto insolúvel e vermelho. A redução do tetrazólio indica, dessa

forma, a viabilidade celular do tecido da semente, em tecidos inviáveis não reagem com a solução de tetrazólio e, portanto, mantém a sua coloração natural (Brasil, 1992).

Como a qualidade das sementes de *E. heterophylla* ainda não foi amplamente analisada (Trezzi *et al.*, 2006) e a espécie causa impacto econômico significativo para a agricultura, esse estudo objetivou avaliar a viabilidade e dormência de sementes de *E. heterophylla* suscetíveis e resistentes aos herbicidas inibidores da enzima ALS, após serem armazenadas durante 14 meses, bem como avaliar a eficácia dos testes de germinação e tetrazólio na determinação da viabilidade destas sementes.

2.3.2. MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de *E. heterophylla* foram obtidas em áreas de cultivo de soja da Coamo Agroindustrial Cooperativa em Campos Mourão – no estado Paraná.

A semeadura e a manutenção das plantas, bem como o armazenamento das sementes foram realizados na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, M.G. Brasil. Trinta sementes dos biótipos resistente e susceptível aos herbicidas inibidores da enzima ALS foram semeadas em vasos, sendo uma semente por vaso com capacidade para 1 litro de substrato formado por latossolo vermelho de textura argilosa. Os vasos foram mantidos em casa-de-vegetação a 30°C e as sementes produzidas por cada planta foram coletadas no mês de setembro e em seguida armazenadas durante 14 meses.

Teste de germinação

As sementes foram colocadas em caixa *gerbox* com duas folhas de papel filtro umedecidas com água destilada e submetidas à temperatura constante de 25°C. As sementes de cada biótipo foram mantidas sob dois tipos de tratamento: a) ausência de luz e b) luminosidade artificial e contínua. As avaliações foram realizadas diariamente, sendo consideradas germinadas, as sementes com radículas, folhas primárias e cotilédones normais. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, tendo quatro repetições, com cada tratamento constituindo por 30 sementes de cada biótipo.

Teste de tetrazólio

As sementes foram imersas em água destilada, durante 18 horas e, em seguida, cada semente foi seccionada longitudinal-diagonalmente, evitando-se atingir o eixo embrionário. As sementes seccionadas foram distribuídas em papel-filtro embebido na água destilada e colocadas em placas de Petri contendo solução de tetrazólio a 1%. As placas de Petri foram envoltas em papel alumínio e mantidas a 30°C, no escuro e em estufa BOD, por 18 horas (Brasil, 1992). Após a incubação, as sementes foram lavadas e mantidas em água

destilada até o momento da avaliação. Os embriões e os endospermas foram analisados com o auxílio de microscópio estereoscópica e considerados viáveis, aqueles quando completamente corados, de acordo com os critérios estabelecidos por Brasil (1992). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, tendo quatro repetições, com cada tratamento constituído por 50 sementes de cada biótipo.

Todos os dados obtidos dos testes de germinação e tetrazólio foram transformados em $\text{ArcSen}\sqrt{x}$. Realizou-se a análise de variância dos dados pelo teste F e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%, com a utilização do *software* JMP 5.0 (SAS Institute Inc.) na análise estatística.

2.3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de *E. heterophylla* suscetíveis e resistentes aos herbicidas inibidores da ALS armazenadas por 14 meses mantiveram sua viabilidade (Tabela 1). Dados semelhantes foram encontrados por Vidal & Trezzi (2000). Biótipos de *Bidens pilosa* suscetíveis e resistentes aos herbicidas com os mesmos mecanismos de ação demonstraram viabilidade similar (Christoffoleti, 2001). Há evidências de que plantas daninhas suscetíveis e resistentes aos herbicidas inibidores da enzima ALS apresentam desenvolvimento similar (Christoffoleti *et al.*, 1994).

TABELA 1 - Viabilidade de sementes de *Euphorbia heterophylla* submetidas aos testes de germinação e tetrazólio, após 14 meses de armazenamento em condições variáveis de temperatura. AL – Sementes germinadas em ausência de luz; LC – Sementes germinadas sob luz contínua.

Genótipo	Sementes viáveis (%)		
	Germinação		Tetrazólio
	AL	LC	
Resistente	33,59 c	48,28 b	72,00 a
Suscetível	28,81 c	45,18 b	69,00 a

Médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste Tukey (5% de probabilidade).

A viabilidade das sementes de *E. heterophylla* analisada por meio do teste de tetrazólio diferiu significativamente dos resultados obtidos pelos testes de germinação, registrando-se no primeiro teste as maiores taxas de viabilidade potencial das sementes resistentes (72%) e suscetíveis (69%). Na análise das espécies *Senna multijuga* e *S. macranthera*, as viabilidades das sementes obtidas pelo teste de tetrazólio foram superiores às médias referentes ao teste de germinação (Ferreira *et al.*, 2004). Diferenças percentuais acima de 5% entre os testes de tetrazólio e germinação podem ocorrer em virtude da presença de dormência em algumas sementes nas amostras (Kryzanowski *et al.*, 1999). A discordância entre as médias de sementes viáveis obtidas por meio das avaliações pelos testes de tetrazólio e germinação pode ter decorrido como consequência de mecanismos que regulem a germinação, já que as sementes de *E. heterophylla* apresentam dormência (Brasil, 1992; Kissmann & Groth, 1997). As células do tegumento das sementes dessa espécie produzem uma mucilagem, o que poderia dificultar a entrada de água e oxigênio (Suda & Pereira, 1997) e, conseqüentemente, a impermeabilidade do tegumento à água retardaria a germinação de sementes (Carvalho & Nakagawa, 1980). Todavia, a relevância da mucilagem nas sementes de *E. heterophylla* não foi ainda estudada.

Nos testes de germinação, na ausência e presença de luminosidade artificial e contínua, foi verificada diferença significativa no percentual de sementes germinadas, cujas médias de sementes submetidas à luz foram superiores às médias de sementes germinadas na ausência de luz. Tais resultados estão em concordância com os de Suda & Pereira (1997) e Brasil (1992), com relatos sobre as sementes de *E. heterophylla* que são fotoblásticas positivas. A necessidade de luminosidade no processo de germinação das sementes de *E. heterophylla* pode estar relacionada à temperatura e ao fotoperíodo em que ocorreu a maturação dos frutos da planta parental, pois sementes produzidas em condições artificiais similares às estações de verão, outono ou inverno e mantidas à temperatura constante de 25°C necessitam de luz para a germinação (Suda & Pereira, 1997).

2.3.4. CONCLUSÃO

As sementes de *E. heterophylla* suscetíveis e resistentes aos herbicidas inibidores da enzima ALS apresentam dormência e viabilidade similares após 14 meses de armazenamento, sob as mesmas condições ambientais. Levando-se em consideração o percentual de sementes suscetíveis e resistentes aos herbicidas inibidores da enzima ALS avaliados pelos testes de tetrazólio e germinação, pode-se dizer que as sementes desta espécie possuem a mesma capacidade de manutenção da viabilidade. A análise comparativa entre os testes de germinação e tetrazólio demonstrou a superioridade do teste de tetrazólio em avaliar a qualidade das sementes de *E. heterophylla* devido à presença de sementes dormentes na amostragem.

2.4. CAPÍTULO 4

Esse capítulo, intitulado como “Efeito do Chlorimuron-ethyl no em biótipos resistentes e suscetíveis de *Euphorbia heterophylla*”, foi submetido à publicação na Revista Planta Daninha.

2.4.1. INTRODUÇÃO

O uso freqüente de um mesmo herbicida ou herbicidas com ação em um único local de uma via metabólica tem permitido a seleção de plantas resistentes a estes compostos químicos. Dentre os fatores que permitem o desenvolvimento da resistência, a diversidade genética das plantas daninhas é uma resposta evolutiva importante para a sobrevivência das espécies em áreas agrícolas (Monquero & Christoffoleti, 2001).

Os herbicidas interferem em processos vitais para as plantas, podendo alterar ou bloquear uma série de eventos fisiológicos e metabólicos que inviabilizam o desenvolvimento de células ou de todo o organismo (Melhorança & Pereira, 2000). Alguns herbicidas inibem a acetolactato sintase (ALS), enzima que catalisa a síntese dos aminoácidos essenciais valina, leucina e isoleucina (Trezzi & Vidal, 2001). As plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da ALS apresentam alteração do gene que codifica tal enzima (Shaner, 1991). Conseqüentemente, a enzima ALS nesse grupo de plantas apresenta modificações na sua seqüência protéica. Sendo assim, os aminoácidos essenciais são produzidos mesmo na presença do herbicida no organismo (Weed Science, 2004).

Os herbicidas inibidores da ALS são amplamente utilizados no manejo de *Euphorbia heterophylla*, o que desencadeou a seleção de biótipos resistentes da espécie em regiões do Centro-oeste (Melhorança & Pereira, 2000), Sudeste (Gelmini *et al.*, 2001) e Sul do Brasil (Winkler & Vidal, 2004).

E. heterophylla é uma planta daninha altamente competitiva com monoculturas como a soja (Chemale & Fleck, 1997) e o seu rápido crescimento e multiplicação (Kissmann & Groth, 1997) geram perdas econômicas importantes, pois cada dez plantas daninhas da espécie por m² reduzem em 7% o rendimento de grãos durante o ciclo da cultura (Chemale & Fleck, 1997).

O conhecimento sobre as características das plantas daninhas e a documentação das respostas que estas plantas apresentam após a aplicação dos

herbicidas é de grande relevância para se evitar o surgimento de novos biótipos resistentes (Christoffoleti & Ovejero, 2004). Em virtude da escassa literatura existente sobre os efeitos da resistência de *E. heterophylla* e a importância econômica que a espécie representa para a cultura de soja, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do herbicida chlorimuron-ethyl (inibidor da ALS) em biótipos suscetível e resistente de *E. heterophylla*.

2.4.2. MATERIAL E MÉTODOS

As sementes dos biótipos suscetíveis (S) e resistentes (R) aos herbicidas inibidores da ALS de *E. heterophylla* foram coletadas em regiões de cultivo de soja, na Coamo Agroindustrial Cooperativa, Campos Mourão, Paraná, Brasil. A obtenção de novas sementes, manutenção das plantas e os tratamentos com o herbicida chlorimuron-ethyl foram realizados na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.

As sementes dos biótipos R e S de *E. heterophylla* foram colocadas, separadamente, em vasos com capacidade para 1 litro (uma semente por vaso) a 1,0 cm de profundidade no substrato latosolo vermelho com textura argilosa.

O desenvolvimento e a manutenção das plantas foram realizados em casa-de-vegetação com temperatura máxima de 30°C e, ao atingirem de seis a oito folhas, cada planta teve sua folha com maior expansão marcada com etiqueta plástica. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 11 repetições. Foram utilizados cinco tratamentos para cada biótipo descritos a seguir: a) T1 - Controle ou ausência da aplicação do herbicida chlorimuron-ethyl; b) dosagens de chlorimuron-ethyl: em kilogramas por hectare: T2 – 0,014; T3 – 0,031; T4 – 0,062; T5 – 0,127; T6 – 0,25; T7 – 0,511; T8 – 1,022. Após sete dias, quando as plantas atingiram o estágio de seis a oito folhas, foram aplicadas as dosagens do produto sobre a parte aérea das plantas, com o auxílio de um pulverizador costal à pressão constante de CO₂, provido de barra pulverizadora com quatro bicos tipo “leque” 110.02, com uma vazão de 240 l/ha. O produto foi aplicado às 14 horas, sob condições ambientais de 33°C e 47% de umidade relativa do ar.

O desenvolvimento das folhas marcadas foi mensurado através de medições da largura (LF) e do comprimento (CF) totais, com o auxílio de um paquímetro. O crescimento em altura das plantas (CA) foi mensurado através de medições da altura, desde o solo até o ápice do caule, com o auxílio de um paquímetro. As análises foram realizadas aos 30 dias após a aplicação do herbicida.

A porcentagem de controle foi calculada utilizando-se a seguinte fórmula, segundo Gazziero *et al.* (1998):

$$\text{Porcentagem de Controle} = 100 - [(D_i/C) \times 100]$$

D_i – Dados amostrais para CA, CF ou LF;

C – Média dos valores das plantas controle para as amostras de CA, CF e LF.

Foi considerado cem por cento (100%) de controle da característica, quando o desenvolvimento da característica analisada foi reduzido a zero em relação ao controle. Desta forma, 0% (zero) representa nenhum controle e 100% o controle total do herbicida sobre a característica analisada.

Os modelos de regressão logarítmica (LN) foram ajustados às médias obtidas dos dados observados, tendo como variável resposta, a percentagem de controle da característica analisada e a variável fixa às dosagens do herbicida inibidor da ALS, Chlorimuron-ethyl.

Os valores de GR_{50} (dose para 50% de controle do biótipo resistente e do suscetível) foram obtidos a partir dos modelos ajustados. As relações médias de GR_{50} para cada característica foram calculadas, dividindo-se o GR_{50} do biótipo resistente pelo biótipo suscetível (R/S). O número de vezes em que a dose necessária para controlar 50% das plantas do biótipo suscetível foi considerado adequado quando superior ao valor com mesmo efeito para o biótipo resistente. Os dados foram analisados, utilizando-se o *software* JMP 5.0 (SAS Institute Inc.).

2.4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias negativas obtidas aos 30 dias após a aplicação (Tabela 1) indicam o estímulo do crescimento das plantas na dosagem do herbicida, quando comparadas ao grupo de plantas controle. A dosagem de 0,031 Kg/ha do herbicida aumentou o comprimento foliar dos biótipos resistentes e suscetíveis e o crescimento em altura do biótipo resistente.

Doses acima de 0,511 Kg/ha de chlorimuron ethyl controlaram em 100% o crescimento das folhas (comprimento e largura) e da altura das plantas suscetíveis. Nenhuma das dosagens utilizadas foi o suficiente para controlar em 100% o biótipo resistente.

A dose comercial de chlorimuron-ethyl (0,127 Kg/ha) controlou, em 21% e 30,28%, o crescimento em altura das plantas resistentes e suscetíveis, respectivamente. A mesma dosagem diminuiu o comprimento foliar dos biótipos resistente, em 7,32%, e suscetíveis, em 20,32%. Para o crescimento em largura foliar, os índices de controle foram de 37,18% (resistentes) e 71,15% (suscetíveis). Tais resultados demonstram que a dose comercial do herbicida (0,127 Kg/ha) foi mais eficaz no controle do crescimento do biótipo suscetível do que no controle do biótipo resistente.

TABELA 1 - Porcentagem média de controle de *Euphorbia heterophylla*, biótipos resistente (R) e suscetível (S), em função das doses do herbicida chlorimuron-ethyl para as características de crescimento em altura, crescimento do comprimento foliar e crescimento do comprimento da largura foliar.

Doses (Kg/ha)	Comprimento em Altura (cm)		Comprimento Foliar (cm)		Largura Foliar (cm)	
	R	S	R	S	R	S
0.014	7.74	19.64	6.16	11.25	18.27	29.49
0.031	-1.07	7.26	-0.95	-4.34	21.47	29.49
0.062	5.36	9.17	6.50	-19.24	15.60	43.91
0.127	21.00	30.28	7.32	20.32	37.18	71.15
0.250	17.85	30.53	17.68	19.71	19.23	68.75
0.511	38.93	100	30.22	100	46.58	100
1.022	26.57	100	38.21	100	42.31	100

Sendo o chlorimuron-ethyl um inibidor da enzima ALS (Christoffoleti, 2001), essa classe de herbicidas altera a formação de valina, leucina e isoleucina (Trezzi & Vidal, 2001), aminoácidos importantes para a formação de proteínas estruturais que compõem o organismo (Strayer, 1996). Desta forma, a não produção destes aminoácidos significa conseqüências drásticas para o crescimento vegetal (Salisbury & Ross, 1991).

Segundo Shaner (1991), uma modificação do gene responsável pela codificação da ALS torna a planta resistente aos herbicidas inibidores da enzima. Tal modificação altera a sequência de aminoácidos da enzima ALS de forma que herbicidas como o chlorimuron-ethyl não conseguem mais provocar a inibição da enzima (Carvalho, 2004). Isto explicaria a menor porcentagem de controle do herbicida chlorimuron-ethyl sobre o crescimento foliar do biótipo resistente.

As análises dos modelos de regressão do crescimento em altura (Figura 1), comprimento (Figura 2) e da largura (Figura 3) foliares mostram que o herbicida

chlorimuron-ethyl é efetivo no controle do biótipo suscetível, alcançando, em todos as características, 100% de controle. O mesmo não ocorre para o biótipo resistente. Assim, sob efeito de herbicidas, as plantas podem modificar o padrão de distribuição de fotoassimiladores entre os seus órgãos.

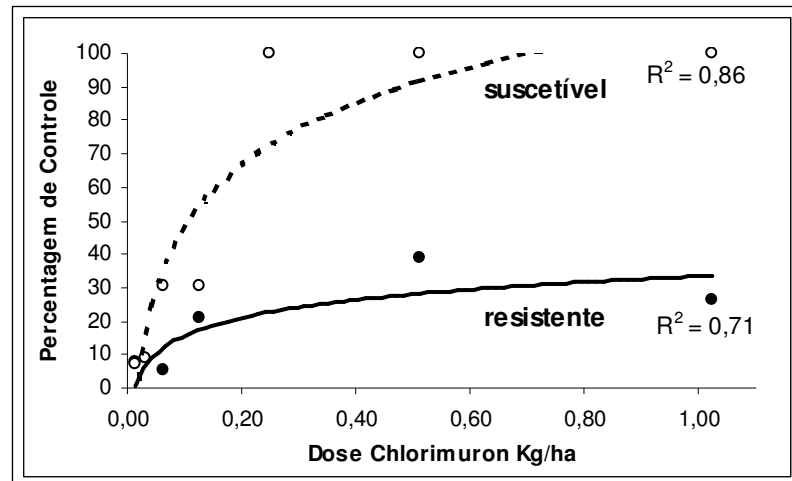


FIGURA 1 - Porcentagem de controle do crescimento em altura de *Euphorbia heterophylla*, biótipos resistente e suscetível, em função das doses do herbicida chlorimuron-ethyl. Para S: $y=26,704\ln(x) + 71,334$; Para R: $y=7,752\ln(x) + 22,404$.

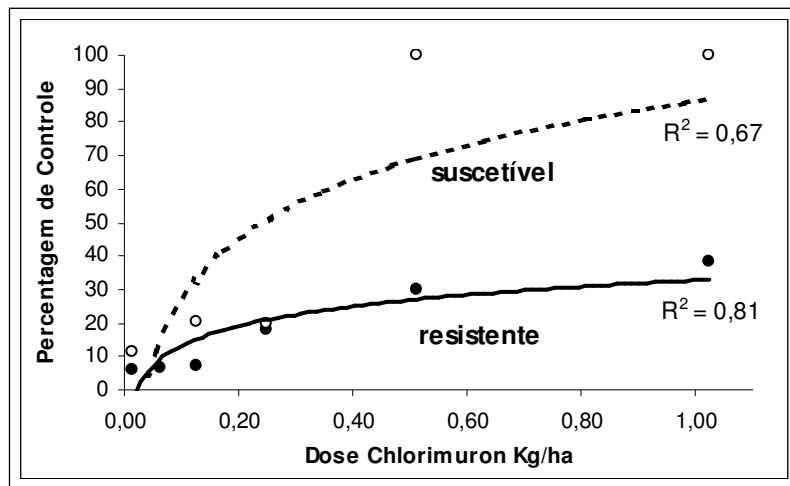


FIGURA 2 - Porcentagem de Controle crescimento do comprimento foliar de *Euphorbia heterophylla*, biótipos resistente e suscetível, em função das doses do herbicida chlorimuron-ehtyl. Para S: $y=25,787\ln(x) + 49,372$; Para R: $y=8,5175\ln(x) + 20,584$.

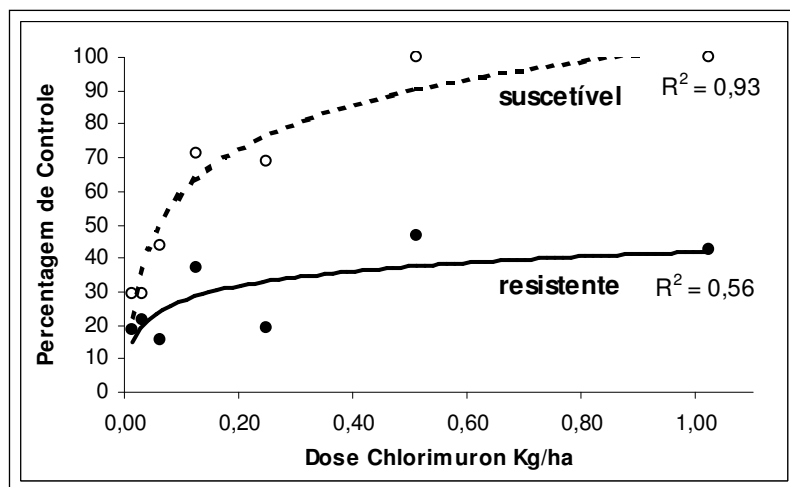


FIGURA 3 - Porcentagem de controle do crescimento em largura foliar de *Euphorbia heterophylla*, biótipos resistente e suscetível, em função das doses do herbicida chlorimuron-ethyl. Para S: $y=19,041\ln(x) + 75,692$; Para R: $y=6,355\ln(x) + 32,814$.

Vidal & Trezzi (2000) analisaram o crescimento de biótipos de *E. heterophylla*, suscetíveis e resistentes aos herbicidas inibidores da ALS e verificaram que ambos os biótipos apresentam taxas de crescimento similares. Mas por meio do presente estudo, pôde-se observar que os biótipos resistentes e suscetíveis da planta apresentam características de desenvolvimento dependente da dosagem aplicada do herbicida inibidor da ALS.

Os valores de GR₅₀ para as características do crescimento analisadas (Tabela 2) demonstram que apenas doses acima de 1,022 Kg/ha são capazes de reduzir em 50% o crescimento do biótipo resistente. Para o biótipo suscetível, entretanto, estes valores encontram-se dentro das dosagens aplicadas.

Por meio das análises dos valores de GR₅₀, pode-se inferir que a aplicação da dosagem comercial (0,127 Kg/ha) de chlorimuron-ethyl foi maior que a dose necessária para reduzir, em 50%, o crescimento em altura da planta e largura foliar, mas tal dosagem é menor que a dose necessária para proporcionar o mesmo efeito no crescimento do comprimento da folha. As razões encontradas de GR₅₀ Resistente/Suscetível mostram que é necessário aplicar 16,45 vezes mais chlorimuron-ethyl em plantas resistentes do que em suscetíveis para que ocorra a redução do crescimento da largura foliar do biótipo resistente em 50%. Para o crescimento do comprimento foliar, necessita-se aplicar 4,16 vezes mais chlorimuron-ethyl em plantas resistentes do que a dose aplicada em plantas suscetíveis.

TABELA 2 - Doses (g/L) correspondentes ao GR₅₀ dos biótipos resistente (R) e suscetível (S) de *Euphorbia heterophylla* a aplicação de chlorimuron-ethyl e a relação R/S.

Parâmetro	GR ₅₀		R/S
	Resistente (R)	Suscetível (S)	
Comprimento em altura	>4.26	0.450	>9.47
Comprimento foliar	>4.26	1.025	>4.16
Largura Foliar	>4.26	0.259	>16.45

Em condições de estresse, como parasitismo e deficiências hídricas do ambiente, o crescimento dos limbos direito e esquerdo podem ser assimétricos (Lempa. *et al*, 2000; Hódar, 2002). O dados obtidos sugerem que a aplicação comercial (0,127 Kg/ha) de chlorimuron-ethyl pode provocar um crescimento diferencial entre largura e comprimento da folhas de *E. heterophylla*.

2.4.4. CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o biótipo resistente não foi controlado pelas doses de chlorimuron-ethyl utilizadas, nem mesmo quando se aplicou uma dosagem oito vezes (1,022 Kg/ha) maior que a dosagem comercial (0,127 Kg/ha). Pôde-se verificar que o crescimento das plantas e folhas (em largura e comprimento) variou em cada uma das dosagens utilizadas. Observou-se que o crescimento em largura é mais sensível ao herbicida do que o crescimento em comprimento das folhas.

3. CONCLUSÃO GERAL

Euphorbia heterophylla apresenta $2n=28$ cromossomos, sendo considerado o número básico para a espécie, $x=7$. Ao que tudo indica, a espécie é poliplóide, contendo quatro conjuntos de cada cromossomos em células somáticas. Sendo assim, os biótipos de *E. heterophylla* suscetíveis aos herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) não apresentam nenhum alelo que lhes possibilitem a sobrevivência na presença de tais herbicidas, como o chlorimuron-ethyl. Já os biótipos de *E. heterophylla* resistentes aos herbicidas inibidores da ALS, podem ter de um a quatro alelos dominantes, o que lhes confere a característica de resistência. Isso explicaria a existência de biótipos de *E. heterophylla* mais e outros menos resistentes aos herbicidas inibidores da ALS.

Quanto à germinação, dormência e viabilidade das sementes, os biótipos de *E. heterophylla* suscetíveis e resistentes aos herbicidas inibidores da ALS apresentam sementes com alto potencial germinativo, mesmo após 14 meses de armazenamento. A presença de luz e utilização de tratamentos pré-germinativos permitem a germinação de um maior número de sementes de ambos os biótipos. Tais dados são importantes na execução de experimentos que necessitem de alto número de sementes germinadas, como na citogenética, ou plantas, em análises morfofisiológicas. Pelo teste de tetrazólio, observou-se que a viabilidade das sementes dos biótipos de *E. heterophylla* suscetíveis e resistentes aos herbicidas inibidores da ALS pode ser subestimada, visto que as sementes que não germinaram podem estar dormentes, ao invés de inviáveis, com algum dano no endosperma ou embrião.

A aplicação de chlorimuron-ethyl em plantas de *E. heterophylla* suscetíveis e resistentes aos herbicidas inibidores da ALS possibilitou verificar, através das características de comprimento e largura foliares e altura das plantas, que altas doses do herbicida são necessárias ao controle dos biótipos resistentes e que sub-doses de chlorimuron-ethyl, ao invés de controlar, algumas vezes, favorecem ou estimulam o desenvolvimento dos biótipos resistentes e suscetíveis. A maior porcentagem de controle da dosagem de chlorimuron-ethyl comercialmente utilizada (0.127 Kg/ha) para os biótipos resistentes foi de 37,18%, o que indica que tal dose já não é eficiente para o controle de tais biótipos. Nem mesmo a dosagem oito vezes superior a dose comercial (1.022 Kg/ha) foi o suficiente para controlar em 100% os biótipos resistentes. Os dados encontrados são relevantes por permitir verificar que a dosagem comercial do herbicida chlorimuron-ethyl tem sido utilizada inutilmente no controle de plantas resistentes de *E. heterophylla*, significando maiores gastos econômicos pela necessidade de reaplicações ou aplicação de super-doses do herbicida e que esse herbicida, possibilita a seleção de biótipos com alto grau de resistência de *E. heterophylla*.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, K.L. & WENDEL, J.F. (2005). Polyploidy and genome evolution in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 8: 135-141.

AKUBUE, P.I., MITTAL, G.C., AGUWA, C.N. (1983) Preliminary Pharmacological Study of Some Nigerian Medical Plants. *J. Ethnopharm.*, 8: 53-63.

ALLEM, A.C. (1975) *Estudo Taxonômico do Gênero Euphorbia L. (Euphorbiaceae) no Rio Grande do Sul – Brasil*. Dissertação apresentada para obtenção do grau de mestre em Botânica, UNESP, Instituto de Biociências, Porto Alegre.

ALVES, M.C.S., MEDEIROS-FILHO, S., ANDRADE-NETO, M. & TEÓFILO, E.M. (2000) Superação da dormência em sementes de *Bauhinia monandra* Britt. e *Bauhinia unguolata* L. – Caesalpinoideae. *Revista Brasileira de Sementes*, 22: 139-144.

BACCHI, O., LEITÃO FILHO, H., ARANHA, C. (1984) *Plantas invasoras de culturas*, UNICAMP.

BADR, A., IBRAHIM, A.G. (1987) Effects of Herbicide Glean on Mitosis Chromosomes and nucleic acids in *Allium cepa* and *Vicia faba* root meristems. *Cytologia*, 52(2): 293-302.

BAKER, H.G. (1974) The evolution of weeds. *Ann. Rev. Ecol. System.*, 5: 1-24.

BANNON, J.S., BAKER, J.B., ROGERS, R.L. (1978) Germination of wild poinsettia (*Euphorbia heterophylla*). *Weed Science*, 26: 221-225.

BARBOSA, J.G., ALVARENGA, E.M., DIAS, D.C.F.S & VIEIRA, A.N. (2005) Efeito da escarificação ácida e de diferentes temperaturas na qualidade fisiológica de sementes de *Strelitzia reginae*. *Rev. Bras. Sementes*, 27(1): 71-77.

BARRETO, R.W. & EVANS, H.C. (1998) Fungal pathogens of *Euphorbia heterophylla* and *E. hirta* in Brasil and their potential as weed biocontrol agents. *Mycopathologia*, 141: 21-36.

BARROSO, G.M. (1991) *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. Imprensa Universitária.

BIESBOER, D.D. & MAHLBERG, P.G. (1981) A comparison of alpha-amylases from the latex of three selected species of *Euphorbia* (Euphorbiaceae). *Am. J. Bot.*, 68(4): 498-506.

BLANCO, H.G. (1972) A importância dos estudos ecológicos nos programas de controle das plantas daninhas. *O Biológico*, 38: 343-350.

BLOSSEY, B. & NÖTZOLD, R. (1995) Evolution of increased competitive ability in invasive non-indigenous plants – a hypothesis. *Journal of Ecology*, 83: 887-889.

BORGIO, A., ROSITO, C. (1978) Resultados da Aplicação de Herbicidas para o Controle de *Euphorbia heterophylla* na Cultura de Soja. *Contribuição do Centro de Experimentação e Pesquisa da Soja da Região Sul*, Florianópolis.

BRACCINI, A.L. (2001) Banco de sementes e mecanismos de dormência em sementes de plantas daninhas. In: OLIVEIRA Jr., R.S., CONSTANTIN, J. *Plantas daninhas e seu manejo*. Agrishow.

BRANDÃO, M.; PALUMA, E.; KEIN, V.L.G.; MAUTONE, L.; GUIMARÃES, E.F.; PEREIRA, R.C.; MIGUEL, J.R. (1995) Plantas daninhas do Estado do Rio de Janeiro: acréscimo aos trabalhos já efetuados no Estado. *Planta Daninha*, 13: 98-116.

BRASIL (1992) *Regras para análise de sementes*. Ministério da Agricultura, Depto. Nacional de Produção Vegetal, Brasília.

BURNSIDE, O.C. (1992) Rationale for Developing Herbicide-resistant Crops. *Weed Technology*, 6(3): 621-625.

CARDOSO, G.D., BELTRÃO, N.E.M., BRITO, C.H., BARRETO, A.F. (2004) Plantas daninhas e sua resistência aos herbicidas. *Caatinga*, 17(1): 32-38.

CARVALHO, F.C. (2004). Mecanismo de ação dos herbicidas e sua relação com a resistência a herbicidas. In: CHRISTOFFOLETI, P.J. *Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas*. HRAC-BR.

CARVALHO, C.R. & SARAIVA, L.S. (1997) High-resolution HKG-banding in maize mitotic chromosomes. *J. Plant Research*, 110: 417-420.

CARVALHO, N.M. & NAKAGAWA, J. (1980) *Sementes: Ciência, tecnologia e produção*. Cargill.

CATANEO, A.C., DÉSTRO, G.F.G., FERREIRA, L.C., CHAMMA, K.L., SOUSA, D.C.F. (2003) Atividade de glutatona S-transferase na degradação do herbicida glyphosate em plantas de milho (*Zea mays*). *Planta Daninha*, 21(2): 307-312.

CHEMALE, V.M. & FLECK, N.G. (1997) Avaliação de cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) em competição com *Euphorbia heterophylla* L. sob três densidades e dois períodos de ocorrência. *Planta Daninha*, 5: 36-45.

CHRISTOFFOLETI, P.J. (1997) Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. In: *I Simpósio sobre herbicidas e plantas daninhas*, Dourados – MS, EMBRAPA, P.75-94.

CHRISTOFFOLETI, P.J. (2001) Análise comparativa do crescimento de biótipos de picão-preto (*Bidens pilosa*) resistente e suscetível aos herbicidas inibidores da ALS. *Planta Daninha*, 19: 75-83.

CHRISTOFFOLETI, P.J. (2004) *Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas*, HRAC-BR.

CHRISTOFFOLETI, P.J. *et al.* (1996). Imidazolinone resistant *B. pilosa* biotypes in the brasilian soybean areas. In: Meeting of the weed science society of America, Nortfolk. *Abstract...*, 36:10.

CHRISTOFFOLETI, P.J., BRANCO, E.F., COELHO, J.V.G., BRITVA, M., FILHO, B.G. (1998) Controle de plantas daninhas em *Pinus taeda* através do herbicida Imazapyr. *Circ. Tec. IPEF*, 187, dez.

CHRISTOFFOLETI, P.J., FILHO, R.V., SILVA, C.B. (1994) Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. *Planta Daninha*, 12(1): 13-20.

CHRISTOFFOLETI, P.J. & OVEJERO, R.F.L. (2002) *Manejo da resistência de plantas daninhas aos herbicidas*. XXIII CBCPD, Palestras, Gramado – RS.

CHRISTOFFOLETI, P.J. & OVEJERO, R.F.L. (2004) Definições e situação da resistência de plantas daninhas aos herbicidas no Brasil e no mundo. In: *Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas*, HRAC-BR.

COBUCCI, T., DI STEFANO, J.G., KLUTHCOUSKI, J. (1999) Manejo de plantas daninhas na cultura do feijoeiro em plantio direto. *Circ. Tec. Embrapa Arroz e feijão*, 35.

COSTA, O.M.M. (1982) Morfologia e desenvolvimento de *Euphorbia heterophylla*. *Agric. Sulriogr.*, 18(2): 59-66.

COSTA, N.V., MARTINS, D., MARTINS, C.C., MARCHI, S.R., DOMINGOS, V.D. (2005) Superação de dormência de sementes de *Ceratophyllum demersum*. *Planta Daninha*, 23(2): 187-191.

CRONQUIST, A. (1981) *An Integrated system of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press.

DARLINGTON, C.D. & WYLE, A.P. (1955) *Chromosome atlas of flowering plants*. George Allen and Unwin Ltd.

DEUBER, R. (1992) *Ciência das plantas daninhas: Fundamentos*. FUNEP.

DE WET, J.M.J. (1980). Origins of polyploids. In: *Polyploidy: Biological relevance*. Plenum.

EARLE, F.R., McGUIRE, T.A., MALLAN, J., BAGBY, MO, WOLFF, L.A. (1960) Search for New Industrial Oils. II. Oils With High Iodine Values. *J. Am. Oil Chem. Sic.*, 37: 48-50.

EIRA, M.T.S., FREITAS, R.W.A., MELLO, C.M.C. (1993) Superação da dormência de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (VELL.) Morong. – Leguminosae. *Rev. Bras. Sementes*, 15: 177-182.

ELLIS, R.H., HONG, T.D., ROBERTS, E.H. (1985) *Handbook of seed germination for genebanks*. IBPGR.

EL-SADEK, L.M., ASHOUR, F.M. (1978) A Comparative Study of the Effect of Fluometuron on Wheat and Broad Bean Root Meristems. *Egypt. J. Bot.*, 21: 161.

EMBRAPA (1999). *Recomendações Técnicas para a Cultura da Soja na Região Central do Brasil 1999/2000*. Londrina: CNPSo (Embrapa Soja. Documentos, 132; Embrapa Agropecuária Oeste, 5).

FERREIRA, E.A. PROCÓPIO, S.O., SILVA, E.A.M., SILVA, A.A., RUFINO, R.J.N. (2003) Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no

Brasil. IV- *Amaranthus deflexus*, *Amaranthus spinosus*, *Alternanthera tenella* e *Euphorbia heterophylla*. *Planta Daninha*, 21(2): 263-271.

FERREIRA, R.A.; DAVIDE, A.C.; MOTTA, M.S. (2004) Vigor e viabilidade de sementes de *Senna multijuga* (Rich) Irwin et Barn. e de *Senna macranthera* (Collad.) Irwin et Barn., num banco de sementes em solo de viveiro. *Rev. Bras. Sementes*, 26: 24-31.

FORNAROLLI, D.A., MORAES, V.J., CAETANO, E. (2002) Alternativas de controle para *Euphorbia heterophylla* resistente aos herbicidas inibidores da ALS em diferentes densidades populacionais. In: *Manejo de plantas daninhas*. XXIII CBCPD.

GARRIDO, L.R., DHINGRA, O.D. (1997) Weed Species as Potential Reservoir Hosts of *Diaphorte phaseolorum* f.sp. meridionalis. *Fitopatol. Bras.*, 22: 108-110.

GAZZIERO, D.L.P. (1980) **Efeito de Três Herbicidas Pós-emergentes Aplicados em Diferentes Horas do Dia sobre Ervas Daninhas e Plantas de Soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. 99p. (Dissertação, Mestrado) - Faculdade de Agronomia, UFRGS (Porto Alegre).

GAZZIERO, D.L.P., BRIGHENTI, A.M., MACIEL, C.G., CHRISTOFOLLETTI, P.J., ADEGAS, F.S., VOLL, E. (1998) Resistência de amendoim-bravo aos herbicidas inibidores da enzima ALS. *Planta Daninha*, 16(2): 117-125.

GAZZIERO, D.L.P., PITELLI, R.A., FILHO, R.V., CHRISTOFOLETTI, P.J., DURIGAN, J.C. (1997) *Algunos aspectos sobre el uso de herbicidas en Brasil*. In: *Resistencia de Malezas a herbicidas*. Informe: Reunion Regional. UNESP: Jaboticabal.

GELMINI, G.A., FILHO, R.V., NOVO, M.C.S.S., ADORYAN, M.L. (2001) Resistência de biótipos de *Euphorbia heterophylla* aos herbicidas inibidores da enzima ALS utilizados na cultura de soja. *Bragantia*, 60(2): 93-99.

GIANNONI, M.L., LUI, J.F. (1988) *Citogenética e sua aplicação na seleção de reprodutores equinos*. UNESP.

GRABE, D.F. (1976) *Manual do teste de tetrazólio em sementes*. AGIPLAN.

GUERRA, M.S. (1988) *Introdução à Citogenética Geral*. Guanabara.

GUIMARÃES, S.C., SOUZA, I.F., PINHO, E.V.R.V. (2004) Viabilidade de sementes de erva-de-touro, sob diferentes condições de armazenamento. *Planta Daninha*, 22: 231-238.

GUPTA, P.K., TSUCHIYA, T. (1991) Chromosome manipulations in higher plants-an overview. In: *Chromosome engineering in plants: genetic, breeding, evolution*. Elsevier Science Publishers.

HADLACZKY, G., BISTRAY, G., PARZNOVSKY, T. DUDITS, D. (1983). Mass isolation of plant chromosomes and nuclei. *Planta* 157: 278-285.

HANS, A.S. (1973) Chromosomal conspectus of the Euphorbiaceae. *Taxon*, 22 (5/6): 591-636.

HEAP, I.M. (1997) The Occurrence of Herbicide-resistant Weeds Worldwide. *Pestic. Sci.*, 51: 225-234.

HEAP, I. "International survey of herbicide-resistant weeds" (2007) – <http://www.weedscience.org>

HÓDAR, J.A. (2002) Leaf fluctuating asymmetry of holm oak in response to drought under contrasting climatic conditions. *J. Arid Environm.*, 52: 233-243.

HOLT, J. & LE BARON, H.M. (1990) Significance and distribution of herbicide resistance. *Weed Technology* 4:141-149.

HSIAO, A.I. & QUICK, W.A. (1984) Action of sodium hypochlorite and peroxide on seed dormancy and germination of wild oats, *Avena fatua* L. *Weed Research* 24(6): 411-419.

JOLY, A.B. (1998) *Botânica: Introdução à taxonomia vegetal*. 12 ed., Comp. Ed. Nac.

JUAN, V.F., SAINT-ANDRE, H., FERNANDEZ, R.R. (2003) Competencia de Lecheron (*Euphorbia dentata*) en soja. *Planta Daninha*, 21(2): 175-180.

KAYE, T.N. (1997). Seed dormancy in high elevation plants: implications for ecology and restoration. In: *Conservation and management of native plants and fungi*. Oregon: Native Plants Society of Oregon.

KIGEL, J., LIOR, E., ZAMIR, L., RUBIN, B. (1992) Biology Reproduction in the Summer Annual Weed *Euphorbia geniculata* Ortega. *Weed Res.*, 32: 317-328.

KISSMANN, K.G. (1996) *Resistência de plantas a herbicidas*. Basf Brasileira S.A.

KISSMANN, K.G. "Resistência de plantas daninhas a herbicidas: visão da indústria" (2003) - http://www.hrac-br.com.br/arquivos/texto_resistencia_herbicidas.doc>

KISSMAN, K.G & GROTH, D. (1997) *Plantas Infestantes e Nocivas*. 2, Basf Brasileira.

KLINGMAN, G.C., ASHTON, F.M., NOORDHOFF, L.J. (1986) *Estudio de las plantas nocivas: principios y prácticas*. Limusa.

KOZHURO, Y., AFONIN, V., MAXIMOVA, N. (2005) Cytogenetic effect of herbicides on plant cells. *BMC Plant Biol.*, 5(suppl. 1): 8-11.

KRYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (1999) *Vigor de sementes: conceitos e testes*. ABRATES.

LACERDA, A.L.S. (2003) *Fluxos de emergência e banco de sementes de plantas daninhas em sistemas de semeadura direta e convencional e curvas dose-resposta ao glyphosate*. Tese apresentada para obtenção do grau de doutor em Agronomia, ESALQ, Piracicaba.

LEAL, C.B.F. (1995) *Floração em Euphorbia heterophylla L.* Dissertação apresentada para obtenção do grau de mestre em Biologia, UNICAMP, Instituto de Biologia, Campinas.

LEE, C.E. (2002) Evolutionary genetics of invasive species. *Trends Ecol. evol.* 17: 386-391.

LEITCH, I.J. & BENNET, M.D. (1997) Polyploidy in angiosperms. *Trends in Plant Scie.* 2:470-476.

LEMPA, K., MARTEL, J., KORICHEVA, J., HAUKIOJA, E., OSSIPOV, V., OSSIPOVA, S., PIHLAJA, K. (2000) Covariation of fluctuating asymmetry, herbivory and chemistry during birch leaf expansion. *Oecologia*, 122: 354-360.

LORENZI, H. (2000) *Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas*. 3 ed., Plantarum.

LÖVE, A. (1984) Chromosome number reports. *Taxon*, 33(1): 126-134.

MA, T.H. (1982) *Vicia* Cytogenetic Tests for Enviromental Mutagens. A Report of the US Environmental Protection Agency. Gene Tox. Program. *Mutant. Res.*, 99: 257-271.

MACK, R.N.; SIMBERLOFF, D.; LONSDALE, W.M.; EVANS, H.; CLOUT, M. & BAZZAZ, F.A. (2000) Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecol. Appl.*, 10: 689-710.

MARTINS, C.C. & DA SILVA, W.R. (1998) Superação da dormência de sementes de capim colônia. *Planta Daninha*, 16(2): 77-84.

MELHORANÇA, A.L. & PEREIRA, F.A.R. (2000) Eficiência do herbicida lactofen no controle de *Euphorbia heterophylla* resistente aos herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS). *Rev. Bras. Herbicidas*, 1(1): 53-56.

MONQUERO, P.A. & CHRISTOFFOLETI, P.J. (2001) Manejo de populações de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da acetolactato sintase. *Planta Daninha*, 19: 67-74.

MORELAND, D.E. (1980) Mechanisms of Action of Herbicides. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 31: 597-638.

MOUSA, M. (1982) Cytological Studies on the Effects of the Herbicide "Stomp" on the Root Tip Cells of *Allium cepa*. *Egypt. J. Genet. Cytol.*, 11: 15.

NARAYAN, R.K. (1998) The role of genomic constraints up evolutionary changes in genome size and chromosome organization. *Ann. Bot.* 82: 57-66.

NOVACK, E.A., CREA, A.E.G., FALSONE, G. (1980) Inhibition of mitochondrial oxidative phosphorylation by 4-deoxyphorbol triesters, a poisonous constituent of the latex of *Euphorbia biglandulosa*. *Desf. Toxicon.*, 18: 165-174.

OHRI, D. (1998) Genome size variation and plant systematics. *Ann. Bot.*, 82: 75-83.

OLIVEIRA, M.F. (2001) Comportamento de herbicidas no ambiente. In: OLIVEIRA Jr., R.S., CONSTANTIN, J. *Plantas daninhas e seu manejo*. Agrishow.

OLIVEIRA, M.F., PRATES, H.T., BRIGHENTI, A.M., GAZZIERO, D.L.P., VIDAL, R.A., VARGAS, L., OLIVEIRA Jr., R.S., PURCINO, A.A.C. (2002) Atividade da acetolactato sintase de plantas de milho e de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*) resistentes e suscetíveis ao imazaquin. *Planta Daninha*, 20(1): 77-82.

OLIVEIRA Jr., R.S. (2001) Introdução ao controle químico. In: OLIVEIRA Jr., R.S., CONSTANTIN, J. *Plantas daninhas e seu manejo*. Agrishow.

PAGLIARINI, M.S. (2000) Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. *Gen. Mol. Biol.* 23: 997-1002.

PINTO, S.B., PANIZZI, A.R. (1994) Performance of Nymphal and Adult *Euschistus heros* (F.) on Milkweed and on Soybean and Effect of Food Switch on Adult Survivorship, reproduction and Weight Gain. *An. Soc. Entomol. Bras.*: 23: 549-555.

PITELLI, R.A. (1987). Competição e controle das plantas daninhas em áreas agrícolas. *IPEF*, 4(12): 1-24.

RAY, T.B. (1984) Site of action of chlorsulfuron inhibitor of valine and isoleucine biosynthesis in plants. *Plant Physiol.*, 75: 827-831.

REJMÁNEK, M. & RICHARDSON, D.M. (1996). What attributes make some plant species more invasive? *Ecology*, 77(6): 1655-1661.

REZNICK, D.N. & GHALAMBOR, C.K. (2001) The population ecology of contemporary adaptations: What empirical studies reveal about the conditions that promote adaptative evolution. *Genetica*, 112: 183-198.

ROST, T.L., MORRISON, S.L., SACHS, E.S. (1977) The Comparative Cell Cycle and Metabolic Effects of Chemical Treatments on Root Tip Meristems I. Ioxinil. *Am. J. Bot.*, 64: 780.

SALISBURY, F.B. & ROSS, C.W. (1991) *Plant physiology*. 3 ed. Publishing Company.

SCHIFINO-WITTMANN, M.T. (2004) Poliploidia e seu impacto na origem e evolução das plantas silvestres e cultivadas. *Rev. Bras. Agric.*, 10: 151-157.

SCHUBERT, I., SCHRIEVER-SCHWEMMER, G., WERNER, T., ADLER, I.D. (1992) Telomeric signals in robertsonian fusion and fission chromosomes: implications for the origin of pseudoaneuploidy. *Cytog. Cell Genet*, 59: 6-9.

SHANER, D.L. (1991) Mechanisms of resistance to acetolactate synthase/acetohydroxyacid synthase inhibitors. In: CASELEY, J.C.; CUSSANS, G.W., ATKIN, R.K. *Herbicide resistance in weeds and crops*. Oxford: Butterworth-heinemann.

SHARMA, A.K. (1970) Annual report 1967-68. *Res. Bull. Univ. Calcutta*, 2: 1-50.

SHARMA, A.K. & SHARMA, A. (1999) Preparation of material for analysis of chromosome at structural fluorochromes. In: *Plant Chromosomes*. HAP.

SILVA, S.I. & SALATINO, A. (1999) Fatty Acids Composition and Potential Use of Some Seed Oil of the Euphorbiaceae in Dry Forest (Brasil). *XVI International Botanical Congress (Abstracts)*. p.688.

SINGH, R.J. (1993) *Plant cytogenetics*. CRC Press.

SMIDERLE, O.J. & DE SOUSA, C.P. (2003) Dormência em sementes de Paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth – Fabaceae – Papilionidae). *Rev. Bras. Sementes*, 25(2): 48-52.

SRIVASTAVA, S., NARAIN, P., SRIVASTAVA, G.S. (1987) A new chromosome number in *Euphorbia* based on male meiosis of *E. clandestina* Jacquin Hort. *Cytologia*, 52: 627-630.

STAHEVITCH, A.E., CROMPTON, C.W., WOJTAS, W.A. (1988) The biology of canadian weeds. 85. *Euphorbia cyparissias* L. *Can. J. Plant Sci.*, 68: 175-191.

STEBBINS, G.L. (1950) *Variation and evolution in plants*. Columbia University.

SUDA, C.N.K. (1991) *Sementes de Euphorbia heterophylla L.: Ocorrência de Polimorfismo e Controle da Germinação*. Dissertação apresentada para obtenção do grau de mestre em Biologia, UNICAMP, Instituto de Biologia, Campinas.

SUDA, C. N. K. (2001) *Hidrolases da Parede Celular em Sementes de Euphorbia heterophylla L. Durante a Germinação e Desenvolvimento Inicial da Plântula*. Tese apresentada para obtenção do grau de doutor em Ciências - Bioquímica, USP, Departamento de Bioquímica e Imunologia, São Paulo.

SUDA, C.N.K. & GIORGINI, J.F. (2000) Seed reserve composition and mobilization during germination and initial seedling development of *Euphorbia heterophylla*. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.*, 12(3): 226-245.

SUDA, C.N.K., PEREIRA, M.F.D.A. (1997) Sensibilidade à Luz de Sementes de *Euphorbia heterophylla* L. Durante a Germinação. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.*, 9: 61-66.

SYBENGA, J. (1992) *Cytogenetic in plant breeding*. Springer-Verlag.

TOLEDO, F.F.D. & MARCOS FILHO, J. (1977) *Manual de sementes, tecnologia de produção*. Agronômica Ceres.

TREZZI, M.M., VIDAL, R.A. (2000) Crescimento estival de três biótipos de leiteira resistentes e um suscetível aos herbicidas inibidores da acetolactato sintase. *Rev. Bras. Herb.*, 1(3): 255-260.

TREZZI, M.M., VIDAL, R.A. (2001) Herbicidas inibidores da ALS. In: VIDAL, R.A. & MEROTTO Jr., A. *Herbicidologia*. Porto Alegre.

TREZZI, M.M., VIDAL, R.A., MATTEI, D., SILVA, H.L., CARNIELETO, C.E., GUSTMANN, M.S.,

VIOLA, R. MACHADO, A. (2006) Efeitos de resíduos da parte aérea de sorgo, milho e aveia na emergência e no desenvolvimento de plântulas de leiteiro (*Euphorbia heterophylla*) resistentes a inibidores da ALS. *Planta Daninha*, 24: 443-450.

VARGAS, L., BORÉM, A., SILVA, A.A. (1999) Técnica de Cruzamentos Controlados em *Euphorbia heterophylla* L. *Bragantia*, 58(1): 23-27.

VASCONCELOS, M.J.V., ABDELNOOR, R.V., KARAN, D., ALMEIDA, A.M.R., OLIVEIRA, M.F., BARROS, E.G., MOREIRA, M.A. (2000) Variabilidade genética em biótipos de leiteiro de Londrina/PR. *Planta Daninha*, 18(2): 285-292.

VAUGHAN, H.E., JAMILENA, M., REJÓN, C.R., PARKER, J.S., GARRIDO-RAMOS, M.A. (1993) Loss of nucleolar-organizer regions during polyploid evolution in *Scilla autumnalis*. *Heredity*, 71: 574-580.

VIDAL, R.A. (1997) *Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas*. Palotti.

VIDAL, R.A. & FLECK, N.G. (1997). Análise do risco da ocorrência de biótipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas. *Planta Daninha*, 15(12): 152-161.

VIDAL, R.A. & MEROTTO JR., A. (2001) *Herbicidologia*. Evangraf.

VIDAL, R.A. & TREZZI, M.M. (2000) Análise de crescimento de biótipos de leiteira (*Euphorbia heterophylla*) resistentes e suscetíveis aos herbicidas inibidores da ALS. *Planta Daninha*, 18: 427-433.

VILA-AIUB, M.M.; NEVE, P.; STEADMAN, K.J. & POWLES, S.B. (2005) Ecological fitness of a multiple herbicide-resistant *Lolium rigidum* population: dynamics of seed germination and seedling emergence of resistant and susceptible phenotypes. *J. Appl. Ecol.* 42(2): 288-298.

VOSA, C.G. & BASSI, P. (1991) Chromosome studies in the Southern African flora. 95-102. The basic karyotype of eight species of succulent *Euphorbia* L. *Caryologia*, 44(1): 27-33.

WANG, A.S., PHILLIPS, R.L., MI, C.C. (1986) Cell cycle parameters and accumulation of metaphase cells in maize suspension cultures. *Plant Sci.* 46: 53-61.

WASCHOWICS, C.M. (1991) *Desenvolvimento Foliar e Crescimento em Euphorbia heterophylla* L. Ed. UNICAMP.

WEED SCIENCE. International survey of herbicide resistant weeds (2004) – <http://www.weedscience.org/in.asp>

WILLARD, T.S., GRIFFIN, J.L. (1993) Soybean (*Glicine max*) Yield and Quality by Responses Associated with Wild Poinsettia (*Euphorbia heterophylla*) Control Programs. *Weed Technol.*: 7: 118-122.

WILSON, A.K. (1981) *Euphorbia heterophylla*: A review of Distribution, Importance and Control. *Trop. Pest Manan.*, 27: 32-38.

WINKLER, L.M., VIDAL, R.A. (2004) *Euphorbia heterophylla* L. resistente aos herbicidas inibidores da acetolactato sintase: distribuição e genética de biótipos do Estado do Paraná. *Pesqui. Agropecu. Bras.* , 14: 85-92.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)