

# GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE POPULAÇÕES DE ORELHA-DE-MULA (*ALISMA PLANTAGO-AQUATICA*) RESISTENTES E SUSCEPTÍVEIS AO BENSULFURÃO-METILO

## SEED GERMINATION OF WATERPLANTAIN (*ALISMA PLANTAGO-AQUATICA*) POPULATIONS RESISTANT AND SUSCEPTIBLE TO BENSULFURON-METHYL

ISABEL CALHA<sup>1</sup>, ILÍDIO MOREIRA<sup>2</sup>, FÁTIMA ROCHA<sup>1</sup>

---

### RESUMO

Estudaram-se as condições mais adequadas à germinação de sementes de *Alisma plantagoaquatica*, susceptíveis (S) e resistentes (R) ao herbicida bensulfurão-metilo, de diferente origem.

Analisou-se a taxa de germinação de 11 amostras de sementes provenientes de arrozais do Sado (2), do Sorraia (3) e do Baixo Mondego (6) em dois regimes de temperatura (15 °C e 15/30 °C); os estudos foram realizados com amostras de dois anos e incluíram uma amostra com três anos proveniente de arrozal do Sorraia. A regressão não linear pelo modelo log-logístico (SSlogis) permitiu caracterizar as populações em estudo e compará-los quanto à

idade, origem geográfica e resistência. Verificou-se que as sementes com três anos apresentaram menor capacidade germinativa (CG) do que as sementes com dois anos. Não foi possível ajustar o modelo à população S do Sado nem a duas populações do Baixo Mondego, pela falta de maturidade das sementes. Verificou-se que nas populações S a germinação das sementes era independente do regime de temperatura, enquanto nas populações R, a germinação era favorecida por determinado regime de temperatura, consoante a sua origem geográfica. Assim a germinação das sementes da população do Baixo Mondego (região Centro) foi favorecida pelo regime de alternância (15/30 °C), enquanto a populações das bacias hidrográficas dos rios Sorraia e Sado (região Centro-Sul) foram favorecidas pelo regime de temperatura constante (15 °C).

Considerando que, à temperatura de 15 °C, as sementes das populações R dos arrozais do Centro-Sul do País apresentaram maior CG do que as da região Centro, esta característica pode ser aproveitada para implementar, naquela região, medidas de gestão da resistência durante a fase inicial do ciclo cultural do arroz quando as temperaturas são mais baixas.

---

<sup>1</sup> Instituto Nacional dos Recursos Biológicos  
Quinta do Marquês  
2270-155 Oeiras, Portugal  
isamc@dgpc.min-agricultura.pt

<sup>2</sup> Instituto Superior de Agronomia/Universidade  
Técnica de Lisboa.  
Tapada da Ajuda  
1349-017 Lisboa

**Palavras-chave:** germinação, *Alisma plantago-aquatica*, resistência aos herbicidas, bensulfurão-metilo

## ABSTRACT

Seed germination of bensulfuron-methyl resistant (R) and susceptible (S) *Alisma plantago-aquatica* biotypes collected in rice fields from Baixo Mondego (6 samples); Sorraia river valey (2 samples) and Sado river valey (2 samples) were compared at 15 °C and 15/30 °C. All seed samples were two years old and an extra sample three years old was also included to assess the effect of seed age on germination. Three year seeds reached higher germination rates than two year seeds at both temperature conditions. Cumulative germination characterized for each biotype using non linear regression (SSlogis) was different according to geographic origin, resistance trait and seed age. The model could not fit data from Sado S biotype and two Baixo Mondego R biotypes due to immature seed. Samples with the highest cumulative germination also have the highest germination rate. Seed germination of S populations was similar at both temperature conditions, whilst for R populations seed germination was favoured by different temperature depending on geographic origin: temperature of 15/30 °C gave the best results for Mondego river valley (Centre region) and temperature of 15 °C for Sorraia and Sado river valleys (Centre-South region of Portugal). The resistant trait affects germination of *A. plantago-aquatica* seeds and may affect resistant-weed management strategies implemented early in the growing season when temperatures are lower.

**Key-words:** germination, *Alisma plantago-aquatica*, herbicide resistance, bensulfuron-methyl

## INTRODUÇÃO

A espécie *Alisma plantago-aquatica* L., vulgarmente conhecida por orelha-de-mula, colhereira ou colhereiro (Rocha, 1996), pertence à classe das monocotiledóneas e à família das Alismatáceas. As Alismatáceas são plantas cosmopolitas que se encontram principalmente em clima temperado do hemisfério Norte (Mabberley, 1996). Em Portugal, estão representados os géneros *Alisma*, *Damanosium*, *Baldelia* e *Sagittaria* (Franco e Afonso, 1994). A presença de *A. plantago-aquatica* e de *A. lanceolatum* With., como espontâneas em zonas alagadas - valas, fossos, margens de cursos de água e pântanos - (Moreira e Duarte, 2002) e como infestantes de arrozais de todo o país, foi referenciada por Vasconcellos (1970), enquanto que *A. gramineum* foi referida apenas como infestante dos arrozais do Centro-Sul.

As infestantes constituem os principais inimigos da cultura do arroz. Em Portugal, praticamente toda a área orizícola tem sido submetida à aplicação de um ou mais herbicidas ao longo de cada ciclo cultural (Calha e Rocha 2004). As milhãs (*Echinochloa* spp.), o graminhão (*Paspalum paspalodes* (Michx) Scribner) e a orelha-de-mula (*A. plantago-aquatica*) constituem as principais espécies infestantes dos arrozais portugueses (Vasconcelos *et al.*, 1998). Os principais herbicidas utilizados no combate de *A. plantago-aquatica* são o bensulfurão-metilo, a bentazona, o cinossulfurão e o MCPA (Machado, 1992). O bensulfurão-metilo pertence à família química das sulfonilureias, inibindo a enzima acetolactato-sintase (ALS, EC 2.2.1.6) que cataliza a primeira reacção da biossíntese dos aminoácidos essenciais: valina leucina e isoleucina, que consiste na incorporação de duas moléculas de piruvato para formar acetolactato (Schloss, 1990). Este herbicida tem sido aplicado, em Portugal, desde 1989, em formu-

lações mistas com molinato ou com mefenacetato e molinato (CNPPA, 1990). Com uma única aplicação era possível controlar as principais infestantes dos arrozais, o que constituía uma grande vantagem prática e económica para o agricultor. Por estas razões, estes herbicidas tiveram grande procura durante o período de 1989 a 1995. Condições de aplicação repetida dos mesmos herbicidas, sem alternância de modos de acção nem rotação de culturas, favoreceram o aparecimento de populações de *A. plantago-aquatica* resistentes ao bensulfurão-metilo, em 1995 (Calha *et al.*, 1995; Calha *et al.*, 1999). Até então, esta espécie, pouco competitiva e muito susceptível aos herbicidas utilizados na cultura do arroz, não causava grandes problemas aos orizicultores portugueses.

As plantas da espécie *A. plantago-aquatica* são aquáticas emergentes, que podem regenerar-se a partir de rizoma ou de semente (Vasconcellos, 1970), por isso consideradas como vivazes ou bienais, de tipo fisiológico hidrófito (Raunkjaer, 1934; Duarte *et al.*, 2004). De ciclo estival (Primavera-Verão), emergem em Abril-Maio e entram em floração de Junho a Setembro (Coutinho, 1974). Produzem frutos múltiplos de aquénios de 2-3 mm, de forma obovada a elíptica, comprimidos lateralmente e com um rostro ventral curto (Franco e Afonso, 1994). O diásporo é constituído por aquénio de semente única; por questão de simplificação, no texto será designado por semente.

As sementes possuem embrião em forma de ferradura e não têm albúmen. Uma planta pode produzir 15 000 a 30 000 sementes (Ruiz-Santaella, 2004), o que revela uma elevada capacidade de produção de sementes.

Em ambiente natural a germinação tende a ser muito errática: algumas sementes germinam após o seu primeiro Inverno; outras permanecem dormentes e viáveis durante 4-5 anos (Crocker, 1938; Sculthorpe, 1985). A

longevidade das sementes de *A. plantago-aquatica* pode atingir seis anos (Crocker, 1938; Sculthorpe, 1985), contribuindo para tal um tipo de dormência fisiológica não profunda provocada pelas características do tegumento que aprisiona mecanicamente o embrião, impedindo a sua germinação (Baskins e Baskins, 1998). No entanto, a semente é permeável à água. Não se trata portanto de “dureza” da semente mas de baixo potencial de crescimento do embrião.

A capacidade germinativa de sementes da espécie *A. plantago-aquatica*, em condições de laboratório, tem sido muito baixa, o que se deve principalmente ao tipo de dormência fisiológica que apresentam, necessitando de ser submetidas a pré-tratamentos para que a germinação ocorra. Sementes secas, colocadas em condições de luz, temperatura e humidade adequadas, não germinam (Munscher, 1936; Scarabel *et al.*, 2003; Hroudová *et al.*, 2004; Pratley *et al.*, 2004). As sementes de *A. plantago-aquatica* podem ser submetidas a diferentes tipos de pré-tratamento para quebra de dormência, como a escarificação, mecânica ou química ou a estratificação (“cold stratification” ou “pre chilling”), utilizada por vezes como sinónimo de pré-refrigeração, que consiste na exposição das sementes a baixas temperaturas (0-10 °C) e humidade durante um período mais ao menos longo (Baskins e Baskins, 1998).

Pré-tratamento por escarificação química [imersão em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (80%) por períodos de tempo inferiores a 20 minutos, com ou sem a adição de solventes orgânicos (Scarabel *et al.*, 2003)] ou escarificação mecânica manual (remoção pontual ou total do tegumento na zona radicular) foram eficazes (Pratley *et al.*, 2004). Neste tipo de tratamento é necessário considerar que a semente de *A. plantago-aquatica* não tem endosperma, pelo que o período de escarificação deve ser ponderado para não se lesar, irremediavelmente, o embrião.

Munsch (1936) refere que o período mínimo de 30 dias de estratificação, na obscuridade, é suficiente para obter elevadas taxas de germinação de *A. plantagoaquatica*, quando as sementes são colocadas à temperatura ambiente. Também Hroudová *et al.* (2004) obtiveram os melhores resultados de germinação em sementes de *A. gramineum* estratificadas em água durante quatro meses, comparada com a de sementes sem pré-tratamento.

Outros tipos de pré-tratamentos como escaldão, pré-secagem, lixiviação ou pré-embrição em cloroflormio não estimulam a germinação de sementes de *A. plantagoaquatica* (Pratley *et al.*, 2004). Os mesmos autores verificaram a ausência de germinação em sementes colocadas em substrato humedecido por soluções de ácido giberélico (1000 ppm), de ácido nítrico (0,2%) ou de etefão (200 ppm) e na obscuridade sem qualquer tipo de pré-tratamento.

Baskins & Baskins (1998) referem que as temperaturas ótimas de germinação de sementes de espécies aquáticas de climas temperados, como *A. plantago-aquatica*, podem variar entre 15 °C e 41 °C, com média de 24 °C. De facto, as temperaturas de germinação citadas na bibliografia para esta espécie estão dentro desta gama: as sementes podem germinar em regime de temperatura constante de 20 °C (Forsberg, 1966; Pratley *et al.*, 2004) ou em alternância dia noite 24/12 °C com fotoperíodo de 12h (Scarabel *et al.*, 2003). Segundo Forsberg (1966), a germinação desta espécie é indiferente à luz. No entanto, a origem das populações de *A. plantago-aquatica* utilizadas nestes estudos era diferente: Norte da Europa (Forsberg, 1966); região mediterrânica (Scarabel *et al.*, 2003); Austrália (Pratley *et al.*, 2004). A germinação de sementes da mesma espécie pode diferir consoante o local de proveniência e variar de ano para ano, constituindo diferentes genótipos da mesma espécie que podem diferir na resposta

germinativa às condições ambientais. Estas diferenças podem ser provocadas pela interacção entre o genoma e o ambiente. Assim, as condições a que planta mãe esteve exposta na fase de formação da semente e as condições a que a semente esteve submetida, no solo, durante o período de Inverno, vão influenciar a germinação na Primavera seguinte (Baskins e Baskins, 1998).

Para além daqueles factores, também a resistência aos herbicidas pode influenciar a capacidade germinativa das sementes de populações resistentes (R) relativamente às susceptíveis (S) (Alcocer-Ruthling *et al.*, 1992; Dyer *et al.*, 1993; Thompson *et al.*, 1994).

Para os herbicidas da família química das *s*-triazinas, as populações resistentes (R) apresentam menor adaptabilidade (“fitness”) do que as susceptíveis (S), o que se traduzia em plantas menos competitivas que produziam sementes com taxas de germinação mais lenta (Mapplebeck *et al.*, 1982). Pelo contrário, as populações resistentes às sulfonilureias, produziam sementes que germinavam mais rapidamente do que as S, embora ambos atingissem 100% de germinação no final do ensaio. Todavia, os resultados dependiam das condições de temperatura em que os estudos decorreram.

Sementes de *Kochia scoparia* R a sulfonilureias germinavam mais rapidamente do que as da população S à temperatura de 4,6 °C mas não a 10 °C. Também sementes R de *Lactuca serriola* germinavam mais rapidamente do que as sementes S, a 8 °C, 18 °C e 28 °C (Alcocer-Ruthling *et al.*, 1992; Dyer *et al.*, 1993). Como refere Thompson (1993), a influência da temperatura na taxa de germinação pode constituir uma diferença importante entre populações S e R dado que a germinação das sementes e a emergência das plântulas vai afectar a capacidade de instalação das populações no campo. Quanto mais rapidamente a população R se instalar mais competitivo se

torna relativamente à população S, à cultura e às outras infestantes. Também o facto de emergir mais rapidamente do que a população S, a expõe a maior pressão de selecção exercida pelo herbicida. Se germinarem mais sementes da população R e mais rapidamente do que as da população S, este tipo de comportamento pode ser explorado para controlar selectivamente a população R antes da sementeira da cultura (Beckie *et al.*, 2001).

Todavia, os estudos para determinação de diferenças na adaptabilidade entre populações S e R devem ser realizados com delineamento experimental adequado: de preferência, as plantas colhidas no campo devem ser sujeitas a retrocruzamentos de, pelo menos, três gerações para tentar eliminar a variabilidade intrapopulacional e, assim, se obterem linhas isogénicas para a característica de resistência (Thompson *et al.*, 1994; Vila-Aiub *et al.*, 2005).

A bibliografia consultada mostra que diferentes equações podem ser utilizadas para descrever a germinação de sementes, como por exemplo modelos de regressão não-linear, correspondentes à distribuição Weibull (Weibull, 1959):  $Y = M \{1 - \exp[-k(tb)^c]\}$  (Brown e Mayer, 1988; Thompson *et al.*, 1994; Shresta *et al.*, 1999; Scarabel *et al.*, 2003). Nesta expressão, Y e M representam, a percentagem de germinação acumulada no tempo T e o máximo valor de Y, respectivamente; b a escala de tempo constante (relacionada com o período de latência e designada por fase “lag”); K a taxa de aumento de Y e c corresponde ao parâmetro “forma” da curva. O valor de  $T_{50}$  é calculado a partir da expressão anterior, pela seguinte equação,  $T_{50} = \{\ln[1 - \{Y50/M\}]/-k\}^{1/c} + b$ . O facto deste parâmetro não ser dado directamente pelo modelo de Weibull constitui uma desvantagem, já que  $T_{50}$  é um parâmetro essencial para comparar, por exemplo, a taxa de germinação de diferentes curvas de germinação.

Segundo Remington *et al.* (1992), a curva de germinação pode assumir outras formas, dependendo do valor do parâmetro c, que define o “enviesamento” e outros parâmetros de forma da curva. Assim para  $c=1$  a função Weibull reduz-se à exponencial, para c próximo de 3,5, assemelha-se à normal e, para valores de  $c>3,5$ , a normal fica enviesada para a esquerda (Bailey e Dell, 1973). Colbach *et al.* (2002) preferem a distribuição de Weibull à de Probit (Gummerson, 1986) ou à de Gompertz (Dürr *et al.*, 2001) pois a primeira considera o “atraso”, correspondente à fase “lag”, no início da germinação, para além dos parâmetros terem significado biológico.

Este trabalho descreve os estudos realizados para determinar: a influência da idade na germinação das sementes de *Alisma plantago-aquatica* e o regime de temperatura mais adequado à germinação de sementes desta espécie em populações de diferente origem e susceptibilidade ao bensulfurão-metilo.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material vegetal

Estudaram-se 11 populações de sementes de *A. plantago-aquatica* que apresentavam diferentes características quanto à origem, susceptibilidade ao bensulfurão-metilo e idade (Quadro 1). Seis eram provenientes de arrozais da bacia hidrográfica do rio Mondego (Mo), duas da bacia hidrográfica do rio Sado (Sa) e três da bacia hidrográfica do rio Sorraia (So). As populações resistentes (R) ao bensulfurão-metilo foram colhidas em arrozais sujeitos à aplicação deste herbicida, durante quatro a seis anos consecutivos. As populações susceptíveis (S) provinham de campos de arroz nunca antes submetidos à aplicação de sulfonilureias, embora tenham sido sujeitos à aplicação de herbicidas de modo de acção

**Quadro 1** – Caracterização das amostras de sementes de populações de *Alisma plantago-aquatica*.

População	Bacia Hidrográfica	Concelho	Aplicação de bensulfurão-mctilo (anos) 1	Susceptibilidade ao bensulfurão-metilo	Ano de colheita
Moi 90	Mondego	Montemor-o-Velho	5 <sup>2</sup>	S	2000
Mo220	Mondego	Figueira-da-Foz	0	S	2000
Mo222	Mondego	Figueira-da-Foz	0	S	2000
Mo229	Mondego	Figueira-da-Foz	0	S	2000
Mo238	Mondego	Figueira-da-Foz	6	R	2000
Mo260	Mondego	Soure	6	R	2000
Sa74	Sado	Alcácer-do-Sal	0	S	2000
Sa88	Sado	Alcácer-do-Sal	6	R	2000
So306	Son-aia	Coruche	2	R	2000
So307a	Soiraia	Coruche	1 (1) 4	R	1999
So307b	Sorraia	Coruche	1 (1) 4	R	2000

1 - Valores entre parêntesis indicam o n° de anos de interrupção na aplicação de sulfonilureias.

2 - Durante 4 anos também foi aplicada bentazona.

diferente do das sulfonilureias, designadamente, bentazona, MCPA, molinato, propanil ou quincloraque. As amostras com dois anos foram colhidas antes da ceifa do arroz, entre 12 e 30 de Setembro de 2000; a amostra com três anos (So307a) foi colhida em 1999 o que permitiu comparar a germinação de sementes com dois e três anos de idade.

### Ensaio de germinação

Foram realizados dois ensaios de germinação em 2002: o primeiro decorreu de 25 de Fevereiro a 5 de Abril e incluiu sete populações (Sa74, Sa88, Mo220, Mo229, Mo238, So306 e So307a); o segundo decorreu de 12 de Março a 5 de Abril com quatro populações (Mo190, Mo222, Mo260 e So307b).

Todas as amostras foram conservadas a 4 °C, na obscuridade, em solução 0,2% KNO<sub>3</sub>, durante 40 meses (estratificação). Após aquele período, colocaram-se 100 sementes de cada amostra em tubos de PVC transparentes com 10-15 ml de solução KNO<sub>3</sub> (0,2%), em dois regimes de alternância de temperatura nocturno-dia 15/30 °C (A) e temperatura constante de 15 °C (B), ambos com fotoperíodo de 8 h. As germinações foram efectuadas em câmaras

incubadoras CASSEL CBT-II, com controlo automático da temperatura (precisão de  $\pm 1$  °C) e da iluminação (200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) fornecida por quatro lâmpadas fluorescentes (PHILIPS TL, 8 W/54 F7). O delineamento experimental foi totalmente casualizado com quatro repetições.

Procedeu-se à contagem e remoção das sementes germinadas (radícula > 2 mm) de dois em dois dias, durante 24-37 dias. Calculou-se a percentagem de germinação acumulada ao longo do tempo, para cada repetição e regime de temperatura.

### Definição de variáveis e parâmetros

As variáveis estudadas enquadram-se a dois níveis: as características das populações de sementes, tais como a idade; origem e susceptibilidade ao bensulfurão-metilo e o regime de alternância (A) ou de temperatura constante (B).

Os parâmetros que caracterizam as curvas de germinação obtidas, para cada população/regime, são os seguintes: capacidade germinativa (CG, percentagem de germinação acumulada atingida no final do ensaio); período de latência (tempo necessário para que as primei-

ras germinações ocorram); tempo necessário para atingir 50% da germinação ( $T_{50}$ ) e taxa de germinação ( $1/c$ ) que pode ser rápida ( $1/c < 1$ ) ou lenta ( $1/c > 1$ ).

### Análise estatística

Procedeu-se à análise de variância da capacidade germinativa para cada população e à comparação de médias pelo método da mínima diferença significativa (MDS).

Para a análise das curvas de germinação, utilizou-se o modelo log-logístico (SSlogis) de três parâmetros com significado biológico, com a seguinte expressão:

$$Y = \frac{M}{1 + e^{-(T_{50}-x)/c}}$$

em que  $Y$ , representa a percentagem de germinação acumulada, no tempo  $T$ ;  $M$ , a assíntota superior (teoricamente corresponde ao máximo  $Y$  e à CG);  $1/c$ , a taxa de aumento de  $Y$  (taxa de germinação). Este modelo apresenta a vantagem de se poderem obter directamente os valores do  $T_{50}$ , embora só se possa aplicar para espécies cuja germinação não passa por um período de latência. O ajustamento do modelo aos dados foi feito pelo método dos mínimos quadrados (MMQ), utilizando o programa S-plus (Bates e Watts, 1988). Thompson *et al.* (1994) reforçam que, para validar uma regressão não-linear é necessário realizar o teste de ajustamento ao modelo ("lack of fit") pela estatística  $F$ .

## RESULTADOS

As figuras seguintes representam as curvas de germinação das sementes de 11 populações de *A. plantago-aquatica*, agrupadas por idade (Figura 1) e origem geográfica (Figuras 2 e 3). No Quadro 2,

apresentam-se os parâmetros do modelo log-logístico ajustado às curvas de germinação que sintetizam o efeito dos dois regimes de temperatura na germinação das amostras de sementes de diferentes populações. Não foi possível ajustar o modelo à população S do Sado (Sa74) nem a duas populações do Baixo Mondego (Mo238 e Mo260).

Para caracterizar a germinação de uma espécie é necessário escolher pelo menos duas grandezas, tais como a capacidade germinativa e a taxa de germinação, pois frequentemente não existe relação entre elas; a taxa de germinação pode ser avaliada por parâmetros com os anteriormente referidos.

Comparando as curvas de germinação de sementes de duas amostras da mesma população (So307), uma colhida em 1999 e outra em 2000, verificou-se que a taxa de germinação ( $1/c$ ) de sementes com dois anos (So307b) foi mais lenta do que a das sementes mais velhas (So307a). No entanto a capacidade germinativa ( $M$ ) e o valor de  $T_{50}$  foram significativamente superiores na primeira amostra, atingindo os valores máximos, no regime de temperatura constante (B). Não se registou período de latência em qualquer das amostras.

Seguidamente analisa-se a germinação das amostras de sementes com dois anos (colheita em 2000). A capacidade germinativa ( $M$ ) variou entre 3 % e 100 %. As populações Mo238, Sa74 e Mo260 apresentaram os valores mais baixos, as duas primeiras em ambos os regimes de temperatura e a terceira no regime B. As populações Mo229 e Sa88, por outro lado, apresentaram os valores mais elevados da CG.

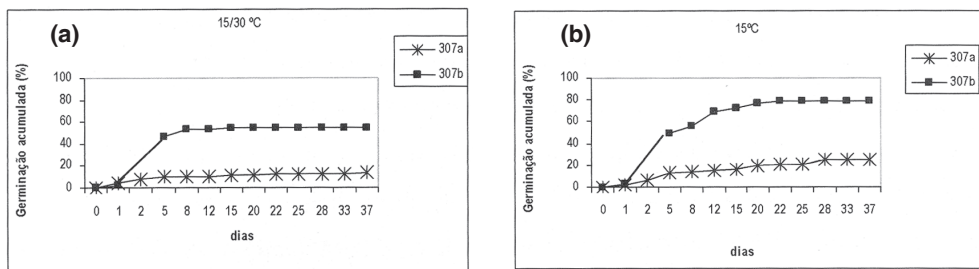
No que respeita ao período de latência, este variou entre 0 e 1 dia; sendo nulo para as populações (regime): Mo220(A/B), Mo222(A/B), Mo229(A/B), Sa88, So306(A) e 307 (B) e de um dia para as seguintes amostras: Sa74 (A/B), Mo238 (A/B), Mo190 (A) e Mo260 (B).

**Quadro 2** – Regressão log-logística das curvas de germinação de sementes de populações de *Alisma plantago-aquatica* R e S ao bensulfurão-metilo, de diferentes origens, em dois regimes de temperatura.

Origem	População	Regime (°C)	M (%)	Parâmetros da regressão			Período latência (dias)
				T <sub>50</sub> (dias)	c	1/c	
Sado	Sa88	15/30	91 (2,0)	-11 (79,3)	3,43 (21,19)	0,29	0
		15	107 (2,0)	0,5 (1,01)	0,33 (0,64)	3,03	0
Sado	Sa74	15/30	6 (0,6)	11 (2,25)	4,97 (1,89)	0,20	1
		15	4	NA	N	NA	1
Mondego	Mo190	15/30	48(2,0)	1,7 (0,28)	0,18 (0,15)	5,64	0
		15	80(2,0)	1,7 (0,11)	0,25 (0,08)	4	0
Mondego	Mo220	15,30	56(3,0)	9 (1,14)	6,39 (1,07)	0,17	0
		15	61(2,0)	6 (0,92)	6,29 (1,05)	0,17	0
Mondego	Mo222	15/30	70(1,0)	1,23 (0,07)	0,23 (0,07)	4,35	0
		15	70(1,0)	0,98 (0,06)	0,41 (0,10)	2,44	0
Mondego	Mo229	15/30	73(3,0)	2,62 (0,83)	3,76 (1,10)	0,27	0
		15	81(3,0)	0,65 (1,19x)	4,80 (1,63)	0,21	0
Mondego	Mo238	15/30	5	NA	NA	NA	1
		15	3	NA	NA	NA	1
Mondego	Mo260	15/30	20	NA	NA	NA	0
		15	3	NA	NA	NA	1
Sorraia	So306	15/30	48 (2,0)	0,19 (1,19)	5,91 (1,69)	0,17	0
		15	45 (2,0)	2,24 (1,03)	6,02 (1,52)	0,17	0
Sorraia	So307a (1999)	15/30	13 (0,9)	0,95 (2,06)	5,83 (3,02)	0,17	0
		15	26 (1,0)	9,12 (1,36)	7,42 (1,32)	0,14	0
		15/30	54 (2,0)	1,61 (0,14)	0,19 (0,06)	5,26	0
		15	71 (2,0)	1,78 (0,08)	0,24 (0,08)	4,17	0

M (capacidade genninativa); T.0 (tempo até atingir 50% da capacidade germinativa) 1;c (taxa de germinação).

NA - não foi possível ajustar o modelo log-logístico aos dados.

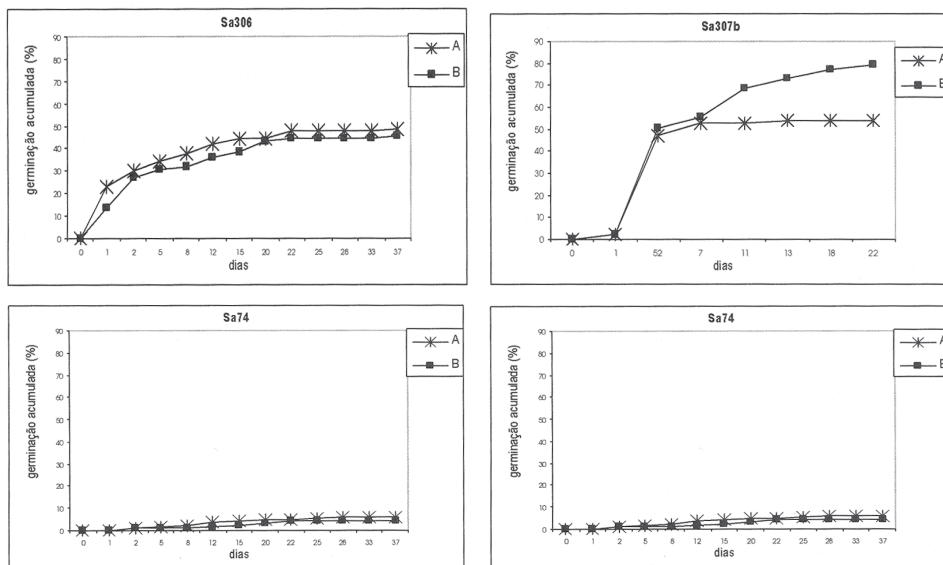


**Figura 1** – Curvas de germinação de sementes de populações de *Alisma plantago-aquatica* com dois (307b) e três (307a) anos de idade provenientes de um arrozal da bacia hidrográfica do rio Sorraia. A – regime de alternância 15/30 °C; B – regime de temperatura constante 15 °C, ambos com fotoperíodo de 8 h.

O parâmetro T50 variou entre 0-9 dias. Cinquenta por cento da capacidade germinativa foi atingida em menos de um dia pelas

populações Sa88 (A/B); So306b (A) e Mo229 (B); nas populações So307 (A/B) e Mo222 (A/B) foi inferior a dois dias e decorreu entre 2-3





**Figura 2** – Curvas de germinação de 4 amostras de sementes de populações de *Alisma plantago-aquatica* R (So307b e Sa88) e S (So306 e Sa74) ao bensulfurão-metilo provenientes das bacias hidrográficas dos rios Sorraia e Sado. A – regime de alternância 15/30 °C ; B – regime de temperatura constante 15 °C, ambos com fotoperíodo de 8 h.

dias nas populações Mo190 (A/B), So307 (B), So306 (B) e Mo229(B). As populações com germinação mais lenta foram a Mo 220 (A/B) e Sa74 (A/B) que precisaram de 6 a 11 dias para atingir 50% da germinação máxima.

## DISCUSSÃO

### Influência da idade na germinação de sementes de *A. plantago-aquatica*

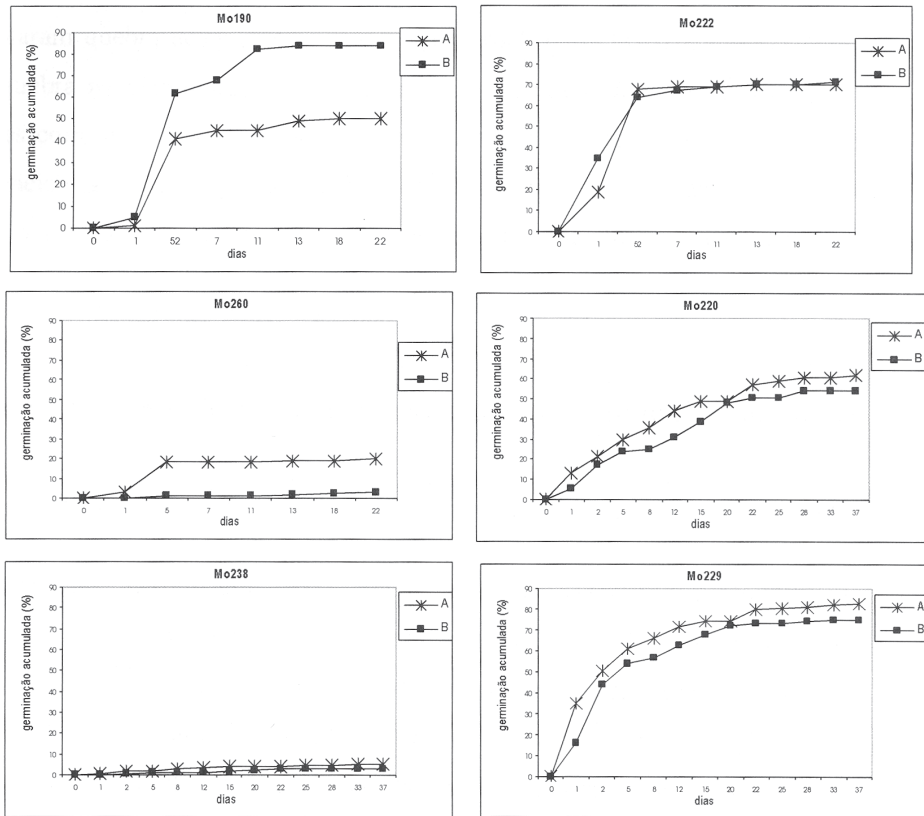
Nas condições de conservação seguidas em laboratório (estratificação) foi possível manter a viabilidade das sementes de *A. plantago-aquatica* durante dois anos.

As sementes com três anos, conservadas nas mesmas condições de laboratório, apresentaram quebra acentuada na sua viabilidade. Crocker (1938) também verificou que a quebra na viabilidade das sementes de *A.*

*plantago-aquatica* é acentuada para sementes com mais de dois anos, pois enquanto a germinação de sementes com dois anos e meio era de 51%, a de sementes com três anos e meio e com seis anos e meio de idade, era apenas de 40% e de 39%, respectivamente. De forma que se torna necessário proceder à renovação das amostras de sementes desta espécie, de dois em dois anos, para manter a elevada taxa de germinação e capacidade germinativa.

### Influência da origem geográfica e da susceptibilidade ao bensulfurão-metilo na germinação

Em termos gerais, verificou-se uma grande amplitude nos valores da capacidade germinativa, desde populações que germinaram na totalidade (Sa88) até populações que praticamente não germinaram (Sa74 e Mo238). As populações Sa74 e Mo238 não foram



**Figura 3** – Curvas de germinação de seis amostras de sementes de populações de *Alisma plantago-aquatica* R (Mo190, Mo238 e Mo260) e S (Mo220, Mo222 e Mo229) ao bentsulfurão-metilo provenientes da bacia hidrográfica do rio Mondego: A – regime de alternância 15/30 °C ; B – regime de temperatura constante 15 °C, ambos com fotoperíodo de 8 h.

consideradas na análise posterior, pelo reduzido grau de maturidade que apresentaram. De facto, estas sementes apresentaram características significativamente diferentes das das outras populações, como reduzidos valores da CG (3-6%), a existência de período de latência (1 dia) que não seria de esperar nesta espécie desde que se procedesse ao pré-tratamento de quebra de dormência adequado (Scarabel *et al.*, 2003).

Considerando apenas o valor médio da capacidade germinativa (M), verificou-se que não houve diferenças significativas entre os

dois regimes de temperatura, o que permite concluir que as sementes de *A. plantago-aquatica* podem germinar tanto em condições de alternância de temperatura (15 °C/30 °C) como a temperatura constante (15 °C). Todavia, analisando separadamente as variáveis origem geográfica e susceptibilidade ao bentsulfurão-metilo verificou-se que estes factores podem influenciar a germinação das sementes desta espécie.

Considerando o conjunto dos resultados foi possível classificar as amostras das populações de *A. plantago-aquatica* em três

grupos distintos: 1) populações cuja taxa de germinação foi rápida e a CG atingida foi independente do regime de temperatura – Mo222 (S); 2) populações com taxa de germinação rápida e CG influenciada pelo regime de temperatura – Sa88 (R), Mo190 (S); So307b (R) e Mo260 (R); 3) populações com taxa de germinação lenta e cuja CG não foi influenciada pela temperatura - Mo220 (S); Mo229 (S) e So306(R).

O factor susceptibilidade/resistência ao bensulfurão-metilo parece ter um efeito mais preponderante na germinação do que a origem geográfica. No entanto, é de salientar que as populações S têm todas a mesma origem geográfica enquanto que as R eram provenientes de diferentes regiões.

No que respeita à susceptibilidade ao bensulfurão-metilo verificou-se que o regime de temperatura parece não ter afectado a germinação das amostras de sementes de populações susceptíveis de *A. plantago-aquatica* (Mo220, Mo222, e Mo229) enquadradas nos grupos 1) e 3) pois os valores da capacidade germinativa (CG) e da taxa de germinação foram idênticos, em ambos os regimes de temperatura. Excepto para a população Mo190 que apresentou comportamento significativamente diferente.

Considerando o grupo 2) como o característico da resistência, pois nele se concentram a maior parte das populações de *A. plantago-aquatica* R ao bensulfurãometilo, os resultados indicam que o regime de temperatura não influenciou a taxa de germinação das sementes destas populações (que foi rápido para Sa88 e So307 e lento para so306) mas teve efeito na capacidade germinativa alcançada. De facto, enquanto a CG das sementes das populações S era independente do regime de temperatura, o regime mais favorável à germinação das sementes das populações R dependia da sua origem geográfica.

Na população R do Baixo Mondego

(Mo260) a germinação foi favorecida pelo regime de alternância (15/30 °C), enquanto que nas populações So307 e Sa88, de arrozais situados na influência das bacias hidrográficas dos rios Sorraia e Sado, respectivamente, a manutenção da temperatura constante de 15 °C foi o regime mais favorável à germinação. A população So306 apresentou um comportamento significativamente diferente das outras. A sua CG não foi afectada pelo regime de temperatura, mas os valores atingidos foram inferiores ao das outras duas populações R, o que pode estar associado à lenta taxa de germinação lenta que apresentou.

A influência das temperaturas na germinação das sementes parece contraditório com a origem geográfica das populações, pois no início do ciclo da cultura, as temperaturas podem atingir valores mais elevados nos arrozais do Centro-Sul (bacias hidrográficas do rio Sorraia e do rio Sado) do que nos arrozais do Centro (bacia hidrográfica do rio Mondego). Todavia, este comportamento pode também estar associado à característica da resistência. Como referem Devine & Shukla (2000) apesar da adaptabilidade das populações S e R às sulfonilureias ser idêntica, em alguns casos registaram-se diferenças ao nível da actividade e funcionamento das formas R e S da enzima ALS, designadamente a perda da afinidade para o piruvato e a menor sensibilidade à retroacção pelos aminoácidos essenciais de cadeia ramificada. Esta última alteração conduz à acumulação daqueles aminoácidos nas folhas e nas sementes das populações R, o que, segundo Dyer *et al.* (1993), pode estar relacionado com uma maior capacidade de germinação das populações R em condições de baixas temperaturas, em relação às população S.

Tirando partido das diferenças apresentadas na germinação de sementes de populações R e S de diferentes regiões, a estratégia a seguir para o controlo das populações resis-

tentes deverá ser diferente consoante as regiões e os anos agrícolas.

No Mondego, a germinação das sementes de populações R parece ser favorecida em anos em que ocorram temperaturas mais elevadas entre Março e Abril. No Sado e Sorraia, em anos de temperaturas baixas no início do ciclo cultural podem ser favorecidas as populações R que germinam antes das populações S. A maior capacidade de germinação das sementes de populações R ao bensulfurão-metilo em relação às populações S, nas condições referidas, podem facilitar o sucesso, de técnicas como a designada por "falsa-sementeira", que se pode utilizar para diminuir as populações R de *A. plantago-aquatica* e que já é recomendada para reduzir infestantes difíceis de controlar como por exemplo o arroz-bravo (*Oryza sativa*) (Machado, 2002). Com efeito, favorecendo-se a germinação precoce, está-se a promover a emergência das plântulas R que seriam depois controladas por herbicidas não selectivos, tal como o glifosato, o paraquato ou o glufosinato-de-amónio procedendo-se de seguida à sementeira do arroz.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo, permitiram chegar a conclusões que devem ser tomadas em conta na experimentação a realizar em estufa com plantas de *A. plantago-aquatica* obtidas a partir de sementes, como também na escolha de medidas de controlo da resistência ao bensulfurão-metilo, a implementar no campo.

As sementes de *A. plantago-aquatica* podem germinar tanto em condições de alternância de temperatura (15 °C/30 °C) como a temperatura constante (15 °C) e fotoperíodo de 8 h. No entanto apresentaram significativa quebra de viabilidade ao fim de três anos;

de forma que, para manter a elevada capacidade germinativa é necessário a renovação das amostras de sementes desta espécie, de dois em dois anos.

As populações de *Alisma plantago aquatica* R ao bensulfurão-metilo apresentaram padrões de germinação significativamente diferentes das populações S e o seu comportamento variou com a origem geográfica. A germinação das sementes das populações S era independente do regime de temperatura, enquanto nas populações R, a germinação era favorecida por determinado regime de temperatura, consoante a sua origem geográfica. Assim a germinação das sementes da população do Baixo Mondego (região Centro) foi favorecida pelo regime de alternância (15/30 °C), enquanto que a populações das bacias hidrográficas dos rios Sorraia e Sado (região Centro-Sul) foram favorecidas pelo regime de temperatura constante (15 °C). Considerando que, à temperatura de 15 °C, as sementes das populações R dos arrozais do Centro-Sul do País apresentaram maior CG do que as da região Centro, esta característica pode ser aproveitada para implementar, naquela região, medidas de gestão da resistência, como a "falsa-sementeira" durante a fase inicial do ciclo cultural do arroz quando as temperaturas são mais baixas.

## AGRADECIMENTOS

Estes estudos foram financiados pelos projectos PAMAF-1017 e Agro-16. Gostaria de expressar o meu agradecimento aos técnicos M. Sombreiro, A.M. Lince e F. Carranca das Zonas Agrárias do Baixo Sorraia, Vale do Sado e Baixo Mondego, respectivamente, pela contribuição e disponibilidade na colheita das amostras de sementes de orelha-de-mula no campo e também ao

Professor António St'Aubyn pela revisão da análise estatística realizada.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcocer-Ruthling, M.; Thill, D.C. & Shaffii, B. (1992) - Seed biology of sulfonylurea resistant and susceptible of prickly lettuce (*Lactuca serriola*). *Weed Technology* 6:858-864.
- Andersen, R.N. (1968) - *Germination and establishment of weeds for experimental purposes*. WF Humprey press Inc Geneve. 236 pp.
- Bailey, R.L. & Dell T.R. (1973). Quantifying diameter distributions with the Weibull function. *Forest Science* 19:97-104.
- Baskins, C.C. & Baskins, J.M. (1998) - *Seeds – ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. Academic Press, 606 pp
- Bates, D.M. & Watts, D.G. (1988) - *Non linear regression analysis and its application*. Wiley Series in Probability and Statistics. John Willey and Sons, 365 pp.
- Beckie, H.J.; Hall, L.M. & Tardif, F.J. (2001) - Impact and management of herbicide – resistant weeds in Canada. *Proceedings British Crop Protection Conference – Weeds*: 747-754.
- Brown, R.F. & Mayer, D.G. (1988) - Representing cumulative germination – 2 – The use of the Weibull function and other empirically derived curves. *Annales of Botany* 61:127-138.
- Calha, I.M.; Machado, C. & Rocha, F. (1995) - A survey of herbicide-resistant weeds in portuguese fields. *Proceedings International Symposium on Weed and Crop Resistance to Herbicides*, Cordoba, pp. 223-226.
- Calha, I.M.; Machado, C. & Rocha, F. (1999) - Resistance of *Alisma plantago-aquatica* to sulfonylurea herbicides in Portuguese rice fields. *Hydrobiologia* 415:289-293.
- Calha, I.M. & Rocha, F. (2004) - Utilização de herbicidas na cultura do arroz no período que antecedeu a ocorrência de resistência adquirida, em Portugal (1991-1996). *Anais Instituto Superior de Agronomia* 49:317-335.
- CNPPA (1990) - *Guia dos produtos fitofarmacêuticos – Produtos com venda autorizada*. MAPA, INIA, Centro Nacional de Protecção da Produção Agrícola. PPA(H)-1/90.
- Colbach, N.; Chauvel, B.; Dürr, C. & Richard, G. (2002) - Effect of environmental conditions on *Alopecurus myosuroides* germination- I - Effect of temperature and light. *Weed Research* 42: 210-221.
- Coutinho, A.X. & Pereira (1974) - *Flora de Portugal*. Palhinha RT (ed) 2ª Ed . Verlag Van J., Cramer, 938 pp.
- Crocker, W. (1938) - Life span of seeds. *Botanical Gazette* 44:375-380.
- Devine, M.D. & Shukla, A. (2000) - Altered target site as a mechanism of herbicide resistance. *Crop Protection* 19: 881-889.
- Duarte, M.C.; Moreira, I. & Ferreira, M.T. (2004) - Flora de ecossistemas aquáticos e ribeirinhos portugueses. *Recursos Hídricos* 25: 67-93.
- Dürr, C.; Aubertot, J.N.; Richard, G.; Dubrulle, P.; Duval, Y. & Oiffin, J. (2001) - SIMPLE: a model for Simulation of Plant Emergence prediction the effects of soil tillage and sowing operations. *Soil Science Society of America Journal* 65:414-442.
- Dyer, W.E.; CHEE, P. & FAY, P.K. (1993) - Rapid germination of sulfonylurea resistant *Kochia scoparia* accessions is associated with elevated seed levels of branched chain amino acids. *Weed Science* 41:18-22.
- Forsberg, C. (1966) - Sterile germination requirements of seeds of some water plants. *Physiologia plantarum* 19:1105-1109.
- Franco, J. do Amaral & Afonso, M.L. Rocha (1994) - *Nova flora de Portugal (Continente e Açores). Alismatacea – Iridacea*. III. 1. Escolar Editora. 181 pp.
- Gummerson, R.J. (1986) - The effect of constant temperature and osmotic potentials on the germination of sugar beet. *Journal of Experimental Botany* 37: 729-741.
- Hroudová, Z.; Zákavský, P. & Cechurová, O. (2004) - Germination of seed of *Alisma gramineum* and its distribution in the Czech Republic. *Preslia, Praga* 76:97-118.
- Mabberley, D.J. (1996) - *The plant book-a portable dictionary of the higher plants*. Cambridge University Press, 706 pp.
- Machado, C. (1992) - *Herbicidas para a cultura do arroz*. MA, INIA CNPPA. PPA (DI)-5/92.
- Machado, C. (2002) - Controle de arroz-bravo (*Oryza sativa*). *Folheto técnico*. MADRP, Direcção-Geral de Protecção das Culturas (DGPC).
- Mapplebeck, L.R.; Souza Machado, V. & Grodzinski, B. (1982) - Seed germination and seedling growth characteristics of atrazine-susceptible and resistant biotypes of *Brassica campestris*. *Canadian Journal Plant Science* 62:733-739.
- Moreira, I. & Duarte, T. (2002) - Comunidades Vegetais

- Aquáticas e Ribeirinhas. In Moreira, MT Ferreira, R Cortes, P Pinto; PR Almeida (Eds.) *Ecossistemas Aquáticos e Ribeirinhos - Ecologia, Gestão e Conservação*, 3.3-3.30. Instituto da Água, DSP, MCOTA, Lisboa, Portugal.
- Munscher, W.C. (1936) - Storage and germination of seeds of aquatic plants. *Cornell University Agronomy Experimental Station Bulletin* 652. (cit in: Andersen, 1968).
- Pratley, J.E.; Flower, R.; Heylin, E. & Sivapalan, S. (2004) - Integrated weed management strategies for the rice weeds *Cyperus difformis* and *Alisma plantago-aquatica*. *Rural Industries Research and Development Corporation (RIRDC) Publication* n° 04/008, Australian Government.
- Raunkjaer, C. (1934) - *The life forms of plants and statistical plant geography*. Clarendon Press, Oxford, 137 pp.
- Remington, K.K.; Bonham, C.D. & Reich, R.M. (1992) - Blue grama-buffalograss responses to grazing: a Weibull distribution. *Journal Range Management* 45: 272-276.
- Rocha, F. (1996) - *Nomes vulgares de plantas existentes em Portugal* – Protecção da Produção Agrícola – Edição Especial. MADRP, DGPC.
- Ruiz-Santaella, J.P. (2004) - *Mecanismos de resistencia a herbicidas inhibidores de la acetil coenzima A carboxilase (ACCase) en especies del género Echinochloa*. Defensa para la obtención del título de Doctor Europeo. Universidade de Córdoba.
- Scarabel, L.; Bero, D. & Sattin, M. (2003) - Dormancy breaking and germination of *Alisma plantago-aquatica* and *Scirpus mucronatus*. *Aspects of Applied Biology -Seed Banks: Determination, Dynamics and Management* 69: 285-292.
- Schloss, J.V. (1990) - Acetolactate synthase, mechanism of action and its herbicide binding site. *Pesticide Science* 29: 283-292.
- Sculthorpe, C.D. (1985) - *The biology of aquatic vascular plants*. Koeltz Scientific Books Königstein West Germany, 610 pp.
- Shresta, A.; Roamn, E.S.; Thomas, A.G. & Swanton, C.J. (1999) - Modelling germination and short radicle elongation of *Ambrosia artemisiifolia*. *Weed Science* 47:557-562.
- Thompson, C.R. (1993) - *Biology of sulfonylurea herbicide-resistant Kochia (Kochia scoparia)*. Ph.D Dissertation. Univ. Idaho, Moscow, ID.
- Thompson, C.R.; Thill, D.C. & Shafh, B. (1994) - Germination characteristics of sulfonylurea resistant and susceptible *Kochia (Kochia scoparia)*. *Weed Science* 42:50-56.
- Vasconcellos, J. de Carvalho e (1970) - *Plantas (Angiospérmicas) aquáticas, anfíbias e ribeirinhas*. Estudos e Divulgação Técnica. Secretaria Estado da Agricultura. Direcção-Geral dos Serviços Florestais e Aquícolas, 253 pp.
- Vasconcelos, T.; Tavares, M. & Gaspar, N. (1998) - Aquatic plants in the rice fields of the Tagus valley, Portugal. *Proceedings 10th EWRS Symposium on Aquatic Weeds*, Lisbon, Portugal, pp 43-146.
- 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. *Journal of Applied Ecology* 42: 288-298.
- Weibull, W. (1959) - A statistical distribution function of wide applicability. *Journal of Applied Mechanics* 18: 293-297.