

ELIANA APARECIDA SILVA

**TÉCNICAS PARA OBTENÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E PRODUÇÃO DE
AMOSTRAS REFERÊNCIA DE SEMENTES DE PLANTAS DANINHAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Antônio Alberto da Silva

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2020**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586t
2020
Silva, Eliana Aparecida, 1980-
Técnicas para obtenção, identificação e produção de
amostras referência de sementes de plantas daninhas / Eliana
Aparecida Silva. – Viçosa, MG, 2020.
116 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Antônio Alberto da Silva.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.111-116.

1. Plantas daninhas. 2. Plantas forrageiras.
3. Contaminantes. 4. Coleções. 5. Sementes. I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia. Programa de
Pós-Graduação em Defesa Sanitária Vegetal. II. Título.

CDD 22 ed. 632.5

ELIANA APARECIDA SILVA

**TÉCNICAS PARA OBTENÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E PRODUÇÃO DE
AMOSTRAS REFERÊNCIA DE SEMENTES DE PLANTAS DANINHAS**


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 14 de maio de 2020.

Assentimento:



Eliana Aparecida Silva
Autora



Antônio Alberto da Silva
Orientador

As dificuldades são amenizadas quando mãos são
estendidas em nossa direção.
Agradeço
à Izabel, à Cleuza e à Andréia.

Dedico

À minha amada filha Isabella Ambrósio
quem tantas vezes teve que abrir mão do
colo para deixar a mamãe estudar.

AGRADECIMENTOS

A DEUS por ter permitido minha existência, me feito forte, saudável, paciente e persistente;

Ao meu pai ANTÔNIO AMBRÓSIO (*in memoriam*) e à minha mãe TERCÍLIA: meus primeiros, grandes e eternos mestres. Obrigada por ter conduzido meus passos e me ensinado as lições primordiais, isso foi o suficiente para eu ser quem sou;

Aos meus orientadores: Dr. Antônio Alberto da Silva e Dra. Maria Izabel Furst Gonçalves pela orientação, dedicação, colaboração na elaboração e execução desse trabalho;

À botânica Andreia Fonseca Silva pela contribuição na execução da identificação botânica;

Ao professor Marcelo Picanço, ao tutor Elizeu de Sá Farias, ao Luís Henrique Lopes de Freitas e Rachel Bragança de Carvalho Mota pelo apoio e colaboração;

À minha filha Isabella, às minhas irmãs Mariinha, Nisinha, Lourdes, Cleuza, ao meu cunhado Ozilton, aos meus sobrinhos Antônio, Wanessa e Carol, aos meus amigos Mirtes, Iurianny, Washington, Cida, Nilson (Sim), Alice, Luiza, André, e a todos que contribuíram ou colaboraram de alguma forma para a conclusão deste trabalho;

À Alice e Lucilene, por ter contribuído com minha busca por coorientação;

Aos meus professores, especialmente àqueles que me fizeram passar noites acordada estudando;

À Universidade Federal de Viçosa, especialmente ao Programa de Pós-Graduação do Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Vegetal, por contribuir com minha formação profissional;

À Faculdade de Estudos Administrativos de Minas Gerais – FEAD, que possibilitou minha formação como Engenheira Agrônoma, em especial ao professor Marcos Flávio Godoy de Oliveira, quem será sempre lembrado pelas valiosas lições;

Ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA, especialmente ao LFDA/LASO-MG, por ter possibilitado a execução da parte prática;

À CAPES, o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001;

BIOGRAFIA

Eliana Aparecida Silva, filha de Antônio Ambrosio da Silva e Tercilia Pereira da Silva, nasceu no município de Gouveia - Minas Gerais, em 06 de agosto de 1980. Em 2002 ingressou no Curso Técnico em Química na Escola Técnica Municipal de Sete Lagoas – ETMSL, concluindo em 2004. Ingressou no curso de Engenharia Agrônômica na Universidade Federal de Lavras em 2006, tendo concluído pela Faculdade de Estudos Administrativos de Minas Gerais – FEAD, em dezembro de 2011. Especializou-se em Proteção de Planta Pela Universidade Federal de Viçosa, de 2012 à 2013. Ingressou no curso de Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Vegetal em março de 2018 concluindo os requisitos necessários para obtenção do título de *Magister Scientiae* em maio de 2020.

Atuou como Técnica em Química na Fundação Ezequiel Dias – FUNED de julho de 2007 a março de 2014. Trabalhou Na Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB, de abril de 2014 a agosto de 2019. Atualmente atua como Engenheira Agrônoma na Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG.

RESUMO

SILVA, Eliana Aparecida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2020. **Técnicas para obtenção, identificação e produção de amostras referência de sementes de plantas daninhas.** Orientador: Antônio Alberto da Silva.

No processo de comercialização de sementes de forrageiras tropicais no Brasil, a presença de sementes contaminantes proibidas ou de nocivas acima do limite estabelecido impede a comercialização do lote. Há limite também para a porcentagem de sementes silvestres. A identificação das sementes contaminantes requer comparação com amostras de referências, as quais devem ter identificação confiável. Assim, este estudo objetivou propor um método confiável e seguro para obtenção, identificação e produção de amostras referência de sementes de plantas daninhas para laboratórios. Para tanto foram selecionadas no campo sete espécies de plantas daninhas, perante um estudo prévio em literatura de referência. Foram feitas fotografias, coletas de estruturas que continham unidades de dispersão e coleta de exemplares para confecção de exsicatas. Parte das unidades de dispersão obtida foi semeada para observação e obtenção de plantas jovens herborizadas. As identificações foram realizadas das seguintes formas: planta a campo, unidade de dispersão (por referências bibliográficas e por comparação com amostras de coleções), planta jovem e exsicata (por especialista). Obtiveram-se sementes suficientes para fornecer amostras das sete espécies para 50 laboratórios. O botânico identificou todas as sete espécies sem precisar recorrer a um especialista na família. As identificações das espécies a campo coincidiram com aquelas realizadas por especialista, indicando que, para as espécies utilizadas no presente estudo, a identificação a campo foi suficiente para determinar a espécie de forma relativamente confiável. As identificações das unidades de dispersão (por referências bibliográficas e por comparação) foram possíveis para cinco das sete espécies, possibilitando, em conjunto, resultados mais seguros. Para a maioria das espécies, a utilização de plantas jovens não proporcionou a identificação da espécie, mas apenas uma probabilidade de ser da espécie determinada pelo especialista. A utilização em conjunto das diversas formas de identificação resultou na identificação de seis amostras em nível de espécie (*Asclepias curassavica* L., *Nicandra physalodes* (L.) Gaertn., *Digitaria insularis* (L.) Fed Melampodium perfoliatum (Cav.) Kunth, *Cyperus rotundus* L., *Distimake aegyptius* (Lam.) A.R. Simões & Staples) e uma apenas de gênero (*Bidens* spp). A determinação dessa última espécie dependerá de estudos mais aprofundados. A identificação por vários métodos simultaneamente proporciona maior confiabilidade e

segurança ao processo, consistindo em um meio eficiente de identificação, que pode ser utilizado como diretriz para a produção de amostras de referência.

Palavras-chave: Sementes contaminantes. Unidade de dispersão. Coleção de sementes. Herborização. Exsicatas.

ABSTRACT

SILVA, Eliana Aparecida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2020. **Obtaining and identifying weed seeds to obtain reference samples.** Adviser: Antônio Alberto da Silva.

In the process of commercialization of tropical forage seeds in Brazil, the presence of prohibited or harmful contaminating seeds above the established limit prevents the commercialization of the lot. There is also a limit for the percentage of wild seeds. The identification of contaminating seeds requires comparison with reference samples, which must have reliable identification. Thus, this study aimed to propose a reliable and safe method for obtaining, identifying and producing reference samples of weed seeds for laboratories. For this purpose, seven weed species were selected in the field, based on a previous study in reference literature. Photographs were taken, collections of structures containing dispersion units and collection of specimens for making exsiccates. Part of the dispersion units obtained was sown for observation and obtaining young herborized plants. The identifications were carried out in the following ways: plant by field, dispersion unit (by bibliographic references and by comparison with samples from collections), young plant and exsiccate (by specialist). Sufficient seeds were obtained to supply samples of the seven species to 50 laboratories. The botanist identified all seven species without having to resort to a specialist in the family. The identification of species in the field coincided with those carried out by a specialist, indicating that, for the species used in the present study, identification in the field was sufficient to determine the species relatively reliably. The identifications of the dispersion units (by bibliographic references and by comparison) were possible for five of the seven species, enabling, together, safer results. For most species, the use of young plants did not provide the identification of the species, but only a probability of being of the species determined by the specialist. The joint use of the various forms of identification resulted in the identification of six samples at the species level (*Asclepias curassavica* L., *Nicandra physalodes* (L.) Gaertn., *Digitaria insularis* (L.) Fed *Melampodium perfoliatum* (Cav.) Kunth, *Cyperus rotundus* L., *Distimake aegyptius* (Lam.) A.R. Simões & Staples) and a gender only (*Bidens* spp). The determination of the latter species will depend on further studies. Identification by several methods simultaneously provides greater reliability and security to the process, consisting of an efficient means of identification, which can be used as a guideline for the production of reference samples.

Keywords: Contaminating seeds. Dispersion unit. Seed collection. Herborization.
Exsiccates.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 MATERIAL E MÉTODOS	15
2.1 Local de condução das atividades	15
2.2 Seleção das plantas no campo	15
2.3 Coleta e preparo de material para exsiccatas	16
2.4 Coleta de frutos, panículas e capítulos	17
2.5 Beneficiamento	17
2.6 Obtenção de plantas jovens e herborização	18
2.6.1 Germinação	18
2.6.2 Cultivo e herborização de plantas jovens	18
2.7 Identificação das espécies	19
2.7.1 Identificação da planta a campo	20
2.7.2 Identificação das unidades de dispersão por referência bibliográfica	20
2.7.3 Identificação das sementes por comparação com a coleção do LASO-MG	21
2.7.4 Identificação por meio de plantas jovens	21
2.7.5 Identificação da planta por especialista	22
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
3.1 Identificação da espécie nº 305	24
3.1.1 Planta a campo	24
3.1.2 Unidade de dispersão	25
3.1.2.1 Por referências bibliográficas	25
3.1.2.2 Comparação com amostras de coleções	29
3.1.2.3 Comparação entre resultados dos tipos de identificação de unidades de dispersão	30
3.1.3 Planta jovem	30
3.1.4 Identificação botânica por especialista	33
3.2 Identificação da espécie nº 309	35
3.2.1 Planta a campo	35
3.2.2 Unidade de dispersão	37
3.2.2.1 Por referências bibliográficas	37
3.2.2.2 Comparação com amostras de coleções	40
3.2.2.3 Comparação entre resultados dos tipos de identificação de unidades de dispersão	40
3.2.3 Planta jovem	42
3.2.4 Identificação botânica por especialista	44
3.3 Identificação da espécie nº 326	45
3.3.1 Planta a campo	45
3.3.2 Unidade de dispersão	46
3.3.2.1 Por referências bibliográficas	46
3.3.2.2 Comparação com amostras de coleções	49
3.3.3 Planta jovem	54
3.3.4 Identificação botânica por especialista	58
3.4 Identificação da espécie nº 333	59

3.4.1 Planta a campo	59
3.4.2 Unidade de dispersão	62
3.4.2.1 Por referências bibliográficas	62
3.4.2.2 Comparação com amostras de coleções.....	63
3.4.2.3 Comparação entre resultados dos tipos de identificação de unidades de dispersão	65
3.4.3 Planta jovem	66
3.4.4 Identificação botânica por especialista	68
3.5 Identificação da espécie nº 360	70
3.5.1 Planta a campo	70
3.5.2 Unidade de dispersão	71
3.5.2.1 Por referências bibliográficas	71
3.5.2.2 Comparação com amostras de coleções.....	73
3.5.2.3 Comparação entre resultados dos tipos de identificação de unidades de dispersão	73
3.5.3 Planta jovem	74
3.5.4 Identificação botânica por especialista	77
3.6 Identificação da espécie nº 384	79
3.6.1 Planta a campo	79
3.6.2 Unidade de dispersão	80
3.6.2.1 Por referências bibliográficas	80
3.6.2.2 Comparação com amostras de coleções.....	81
3.6.2.3 Comparação entre resultados dos tipos de identificação de unidades de dispersão	83
3.6.3 Planta jovem	83
3.6.3 Identificação por botânico	86
3.7 Identificação da espécie nº 390	87
3.7.1 Planta a campo	87
3.7.2 Unidade de dispersão	90
3.7.2.1 Por referências bibliográficas	90
3.7.2.2 Comparação com amostras de coleções.....	91
3.7.2.3 Comparação entre resultados dos tipos de identificação de unidades de dispersão	94
3.7.3 Planta jovem	94
3.7.4 Identificação botânica por especialista	99
3.8 Comparação entre as diversas formas de Identificação.....	101
3.8.1 Identificação a campo	101
3.8.2 Identificação por plantas jovens	101
3.8.3 Identificação de unidades de dispersão por referências bibliográficas.....	104
3.8.4 Identificação de unidades de dispersão comparação por amostras de coleções	106
3.8.5 identificação botânica por especialista	107
3.9 Uso de todas as formas de identificação conjuntamente	107
4 CONCLUSÕES	110
5 REFERÊNCIAS	111

1 INTRODUÇÃO

A pecuária é de grande importância para o Brasil, elevando o país à posição de destaque no cenário mundial. No ano de 2018, o Brasil possuía o maior rebanho bovino do mundo com 214,7 milhões de cabeças. O país foi também o maior exportador e segundo maior produtor mundial suprimindo 16,6% da demanda, sendo responsável por 15,3% dessa produção, considerando bovinos e bubalinos. Com isso, a pecuária foi responsável por 8,7% do PIB nacional (ABIEC, 2019).

Apesar de o Brasil deter tecnologia para praticar pecuária intensiva e semi-intensiva, a maior parte do rebanho é mantido à pasto, o que contribui com a redução do custo de produção da carne, tornando o país competitivo neste mercado (Ferraz & Felício, 2010).

Com o advento do desenvolvimento pecuário, o país se tornou o maior produtor, consumidor e exportador de sementes de forrageiras tropicais do mundo, com produção de 324,223 mil toneladas na safra 2017/2018, aumento de 37 % em relação à safra anterior. Desse total, em torno de 75% foi consumido no mercado interno, não só pela pecuária, mas também pela agricultura (ABRASEM, 2016, 2018).

Esse cenário de acessão comercial faz com que sejam cada vez mais preocupantes as questões relacionadas à qualidade do produto (Do Valle, Jank & Resende, 2009). De acordo com Batista (2004), lotes de sementes provenientes de campos sem controle implicam em um grande risco de contaminação de pastagens em formação por plantas daninhas, o que pode onerar consideravelmente a lavoura, em função da necessidade de manejo. Além disso, quando se trata de mercado externo, as atenções se voltam também para as barreiras fitossanitárias, cada vez mais atuantes.

Ressalta-se ainda que a competição imposta pelas plantas daninhas constitui em fator importante no processo da degradação de pastagens (Dias Filho, 1998). Tal fato se agrava em pastagens com algum grau de degradação, em geral devido ao manejo inadequado (Pereira *et al* 2011). De acordo com dados da ABIEC (2019), o Brasil possui 1,6 milhões de hectares de pastagens em estágio avançado de degradação agrícola, ou seja, áreas em que o aumento na proporção de plantas daninhas na pastagem, diminui gradualmente a capacidade de suporte (Dias Filho, 2014).

Estas plantas chegam às culturas por meio do vento, água, animais, máquinas agrícolas, adubações orgânicas e, especialmente, por mudas e sementes contaminadas

(Pelissari, 2011). Diante do risco da utilização de lotes de sementes forrageiras contaminados por espécies de plantas daninhas, e da necessidade de ofertar ao mercado nacional e internacional um produto de boa qualidade, foram estabelecidas normas e padrões mínimos para produção e comercialização de sementes de forrageiras. Isto se deu por meio da Lei no 10.711, de 05 de agosto de 2003 e da Instrução Normativa nº 30 de 21 de maio de 2008 (Brasil, 2008).

Os lotes de sementes que são comercializados no Brasil, passam por análises de qualidade realizadas por laboratórios credenciados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Para tanto se faz necessário que os laboratórios disponham de coleções de sementes certificadas, pois são padrões de referência essenciais para identificação das sementes que podem estar presentes nas amostras (Associação Brasileira de Normas Técnicas 2005; 2017). Desta forma, garante-se também que os resultados sejam legalmente defensáveis (Netto *et al.* 2009) e também aceitos internacionalmente (International Seed Testing Association, 2018).

Tendo em vista que há uma notória carência de padrões de referência de sementes de daninhas no mercado nacional, da importância da aquisição de padrões confiáveis e do alto custo de aquisição por meio de importação, faz-se necessário elaborar um protocolo para produção de padrões de referências de sementes que atenda as exigências da ISO 17 025, para serem usadas em laboratório com vista a obter credenciamento no MAPA ou acreditação no INMETRO ou na International Seed Testing Association – ISTA. Nesse sentido o objetivo geral deste trabalho foi propor um método confiável e seguro para obtenção, identificação e produção de amostras referência de sementes de plantas daninhas para laboratórios e os objetivos específicos foram:

- Coletar unidades de dispersão de sete espécies de plantas daninhas importantes para o Brasil, em quantidade suficiente para fornecer amostras das sete espécies para 50 laboratórios;
- Identificar as unidades de dispersão utilizando cinco metodologias distintas e independentes: no campo, por meio das unidades de dispersão (utilizando-se de referências bibliográficas e comparação com coleções), por suas plantas jovens e por meio de exsicatas (realizada por botânico).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de condução das atividades

As atividades relacionadas ao processo de obtenção e identificação das sementes foram conduzidas em três etapas. A primeira, seleção das plantas em campo e coleta de material para exsicata das plantas, frutos, capítulos ou panículas com as unidades de dispersão, foi realizada nos municípios de Gouveia, Viçosa, Montes Claros e Belo Horizonte, todos no Estado de Minas Gerais.

A segunda etapa, extração e beneficiamento das unidades de dispersão, armazenamento das sementes, herborização de plantas adultas, identificação destas por comparação com as coleções, germinação e cultivo das plantas e confecção de exsicatas das plantas jovens, foi realizada no Laboratório Oficial de Análise de Sementes – LASO-MG do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, em Belo Horizonte.

A terceira etapa, preparo de exsicatas e identificação das mesmas foi realizada no Herbário da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais- EPAMIG, localizado em Belo Horizonte. As três etapas foram realizadas entre os meses de janeiro de 2019 e fevereiro de 2020.

2.2 Seleção das plantas no campo

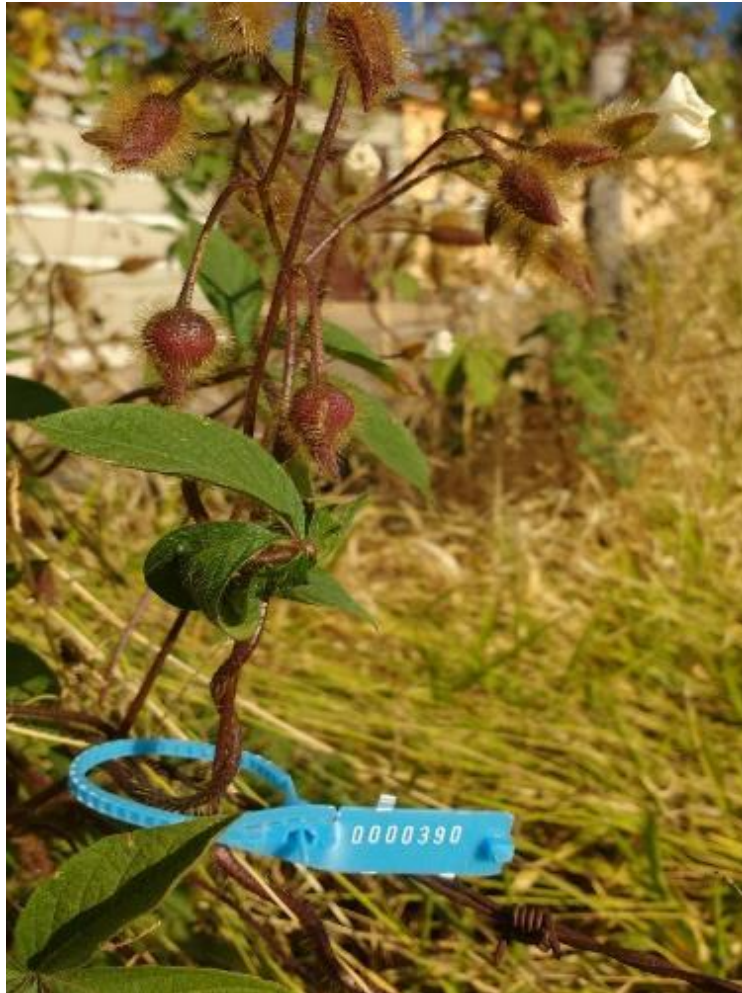
A seleção das espécies para coletas de sementes e identificação considerou a importância da espécie com planta daninha e as listas de espécies nocivas publicadas pelo Ministério da Agricultura (Brasil, 2008, 2013; Moreira & Bragança, 2011; Lorenzi, 2014).

Para tanto, antes das visitas a campo, foi realizado um estudo prévio da literatura de referência (Lorenzi, 2008, 2014; Kissmann & Groth, 1997), de onde foram extraídas informações relevantes sobre as espécies de interesse e de espécies semelhantes, com a finalidade de facilitar a seleção e identificação de plantas no campo.

Quando plantas de espécie de interesse foi localizada nas visitas a campo, elas foram marcadas com uma etiqueta tipo lacre plástico numerado, sendo este número utilizado na ficha da espécie e utilizadas para identificar o material coletado para produção de exsicatas e na obtenção de sementes (Figura 1). Na ficha da espécie foram

anotados a localização georreferenciada, nome vulgar e possível nome científico, período de coleta, porte e quantidade aproximada de plantas da mesma espécie no entorno. Além disso as principais características morfológicas das plantas foram registradas em fotografias também identificadas com o número da espécie.

Figura 1: Espécie nº 390 selecionada e identificada com lacre numerado.



Fonte: Fotografia da autora.

2.3 Coleta e preparo de material para exsiccatas

Durante a seleção e identificação das plantas das espécies selecionadas foram coletados exemplares contendo estruturas vegetativas e de reprodução (plantas com flores/frutos). Tais exemplares foram colocados em prensas de herborização, identificadas com o número da espécie e levadas para uma sala climatizada do laboratório ($UR \leq 50$ e Temperatura entre 18 e 22°C), até que atingissem umidade adequada. Posteriormente o material herborizado foi enviado ao herbário da EPAMIG – MG onde foram confeccionadas as exsiccatas.

2.4 Coleta de frutos, panículas e capítulos

A coleta dos frutos, capítulos e panículas foi realizada de acordo com o período de maturação. Desta forma, a coleta das panículas da espécie 333, dos frutos da espécie nº. 390 e dos capítulos da espécie nº. 326 se deram no momento da seleção da espécie no campo, dado à grande quantidade de material disponível neste momento.

Por outro lado, os capítulos da espécie 360 e os frutos das espécies 305 e 309 foram coletados semanalmente e acondicionados em sacos de papel, os quais foram reunidos em sacolas de tecido poroso (tule) perfazendo um lote de cada espécie. Esse lote foi identificado com o mesmo número da espécie.

Para obtenção dos frutos da espécie nº 384 foram coletadas plantas inteiras (parte aérea e subterrânea) as quais foram colocadas sobre uma lona para secar. Neste caso, a identificação da planta no campo e a extração das núculas foram realizadas com o auxílio de um técnico da UFV, experiente nas plantas do gênero. Posteriormente usou-se a técnica de batimento para promover o desprendimento das núculas das panículas, coletando-as ao final do processo.

No decorrer do processo de monitoramento para coleta das unidades de dispersão maduras, foram realizados também registros fotográficos dos órgãos de todas as espécies, em vários ângulos, constando as características passíveis de auxiliarem na identificação a campo e botânica das plantas.

2.5 Beneficiamento

As unidades de dispersão foram extraídas das estruturas de produção, contadas, obtendo-se assim uma amostra grande contendo as unidades de dispersão para cada uma das sete espécies em estudo. Quando necessário foi realizada uma limpeza da amostra, retirando as partes mais grosseiras (panículas, estruturas do fruto, impurezas e sementes danificadas), de acordo com a necessidade de cada espécie.

As unidades de dispersão foram acondicionadas em sacos de papel e colocadas no arquivo de amostras do LASO-MG, onde a umidade relativa é mantida abaixo de 50% e a temperatura entre 18 e 22°C. Posteriormente parte das unidades de dispersão foram retiradas do armazenamento para serem utilizadas em semeaduras e observações das características morfológicas sob microscópio-estereoscópio.

2.6 Obtenção de plantas jovens e herborização

2.6.1 Germinação

Para cada espécie em estudo, as unidades de dispersão foram semeadas em duas temperaturas: 25°C e 20-30°C, com quatro repetições de 25 sementes cada, colocadas em caixa acrílicas tipo gerbox (11cm x11cm x 3,5cm), com duas folhas de papel germibox previamente umedecidos. A quantidade de água utilizada dependeu do tamanho e formato das sementes de cada espécie, sendo utilizada a quantidade de água equivalente a duas vezes o peso do papel para as sementes da espécie nº 309, 333 e 384; duas vezes e meia para a espécie nº. 305 e 360 e três vezes para a espécie 390.

A germinação foi conduzida em germinadores tipo BOD, com luz constante a 25°C e luz alternada a 20-30°C (8 horas a 30° com luz e 16 horas a 20°C no escuro. Para a espécie nº 333, a germinação foi realizada também à temperatura alternada de 20-35°C, pois esta condição era recomendada na literatura para germinação de gramíneas. Em temperaturas alternadas, a semeadura foi realizada quando o período da temperatura mais baixa estava se iniciando.

Foram realizadas contagens periódicas das sementes germinadas (protrusão radicular) e a germinação foi finalizada quando se deu a estabilização por mais de 7 dias. Foram determinadas as porcentagens de germinação (protrusão radicular) em cada uma das temperaturas.

2.6.2 Cultivo e herborização de plantas jovens

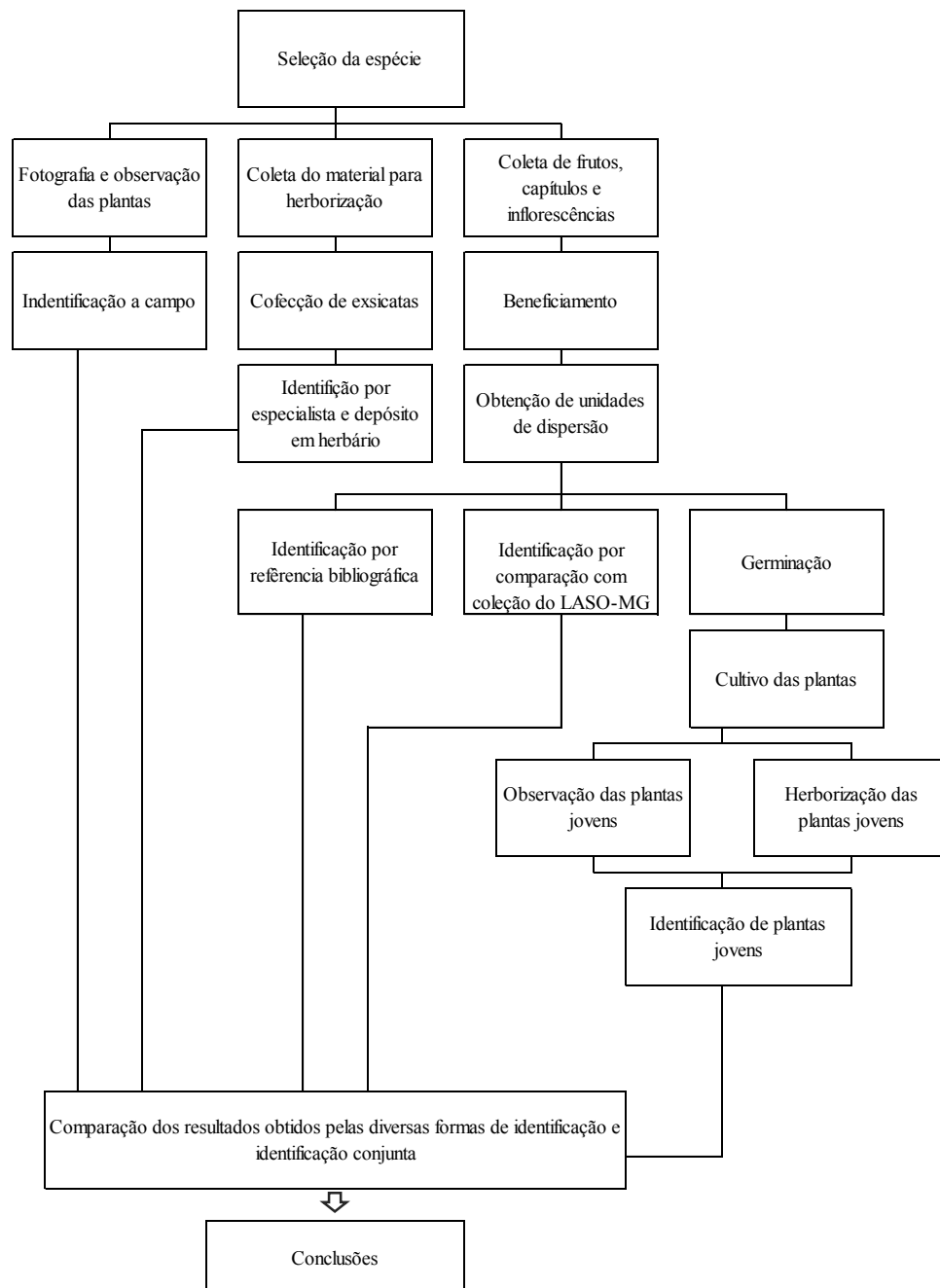
Após a protrusão radicular, as unidades de dispersão foram transferidas para recipientes contendo substrato à base de areia, vermiculita e terra na proporção (2:2:1). O desenvolvimento das plantas foi monitorado até a obtenção de plantas com o primeiro par de folhas definitivas, e algumas vezes, também o segundo par de folhas e outros pares. Quando as plantas jovens atingiram o estágio pretendido foram herborizadas conforme técnica utilizada pela Universidade Federal de Viçosa (não publicado).

Em casos em que houve dificuldade de visualizar algumas características das plantas jovens nas exsiccatas, foi repetido o processo de germinação, sendo novas sementes semeadas e seu desenvolvimento observado e as plantas fotografadas.

2.7 Identificação das espécies

A identificação botânica foi realizada utilizando separadamente diversas formas: plantas adultas a campo, unidades de dispersão (por referências bibliográficas e por comparação por sementes de coleções), pelas plantas jovens e pela exsicata da planta adulta. Ao final, os resultados das diversas formas de identificação foram comparados entre si com a identificação das exsicatas da planta adulta, que foi considerada uma referência (Figura 2).

Figura 2: Fluxograma mostrando os passos para identificação das espécies em estudo por diversas formas de identificação.



Fonte: Elaborado pela autora.

2.7.1 Identificação da planta a campo

A identificação da espécie a campo foi realizada com auxílio das referências: Manual de identificação e controle de plantas daninhas (Lorenzi, 2014), Plantas infestantes e nocivas (Kissmann & Groth, 1997, 1999, 2000) e Manual de identificação de plantas infestantes (Moreira & Bragança, 2011).

Realizou-se a observação das plantas do campo, comparando-as com as descrições e ilustrações das referências citadas acima. Adicionalmente, registraram-se, por meio de fotografia e anotações, as características morfológicas passíveis de influenciar na identificação da espécie. Quando necessário outras referências foram consultadas.

2.7.2 Identificação das unidades de dispersão por referência bibliográfica

A identificação das sementes foi realizada utilizando-se referências bibliográficas com fotos e descrições das unidades de dispersão (Kissmann & Groth, 1997, 1999, 2000; Lorenzi, 2014) e sites como USDA (2020) e CONABIO (2020). Foram comparados os detalhes descritos pelos autores acima com aqueles observados nas unidades de dispersão das sementes coletadas sob microscópio estereoscópico com aumento de 10 a 50X.

Numa segunda fase, quando pelo menos o gênero da espécie em estudo já estava definido, uma vez que todas as amostras das unidades de dispersão, objeto deste estudo, foram coletadas em Minas Gerais. O site do projeto Flora Brasil 2020 foi consultado para obter a lista de espécies do gênero com registro de ocorrência nesse estado (REFLORA, 2020). Quando foi evidenciado que existiam outras espécies não descritas nas referências consultadas anteriormente, foram feitas buscas de informações sobre as características das unidades de dispersão dessas espécies, em artigos e sites, incluindo o próprio site do Refflora.

2.7.3 Identificação das sementes por comparação com a coleção do LASO-MG

Dado que a identificação de sementes por comparação exige experiência e vivência, especialmente para conseguir separar as variações naturais das características morfológicas de uma espécie, com as reais diferenças de morfologia, esta identificação foi realizada sob a supervisão de analistas experientes do LASO-MG.

Inicialmente, a amostra das unidades de dispersão das espécies em estudo foram observadas a olho nu e lupa de mesa com aumento de 10X, para se identificar a família botânica. Em seguida as amostras dessa família disponíveis nas coleções do LASO-MG foram examinadas, sendo selecionadas aquelas com tamanho, formato e cor semelhantes.

Numa segunda fase, essas amostras selecionadas foram observadas e comparadas com as unidades de dispersão da espécie em estudo sob microscópio-estereoscópio com aumento de 10 a 50X. Nesta fase, além das dimensões, foram observadas principalmente as texturas das estruturas que cobrem as sementes (tegumento, pericarpo, glumas) e detalhes das características morfológicas chave para identificação na família/gênero em questão, a exemplo das aristas de *Bidens* spp, tipo de hilo e cor de hilo em convolvuláceas e local de inserção dos pelos sedosos e nervuras em *Digitaria* spp.

2.7.4 Identificação por meio de plantas jovens

O desenvolvimento das plântulas após a protrusão da raiz primária foi observado e descrito, sendo as mesmas classificadas de acordo com Garwood (1996); Ibarra-Manríquez, Martínez e Oyama (2001). Porém, não foram localizadas descrições detalhadas ou classificações das plântulas para usá-las de forma mais efetiva na identificação.

A identificação da planta jovem foi realizada quando a planta possuía no mínimo um par de folhas verdadeiras. No caso de dicotiledôneas, as características das folhas cotiledonares também foram consideradas. Os procedimentos de identificação foram realizados por observação das exsicatas das plantas jovens confeccionadas neste trabalho. Apenas quando foi necessário e possível, novas sementes foram postas para germinar, sendo as características observadas novamente nas plantas jovens cultivadas em recipientes (não foram herborizadas).

Primeiramente foi realizada uma busca de plantas jovens similares em Lorenzi (2014) e depois em Kissmann e Groth (1997, 1999, 2000). Quando as informações presentes nestas bibliografias não foram suficientes, outras referências, inclusive sites foram consultados. Nessa forma de identificação, quando não foi possível determinar com segurança a espécie, especialmente quando não havia ilustrações das plantas, foram escolhidas como prováveis aquela ou aquelas espécies cujas descrições eram mais próximas das plantas jovens da espécie em estudo.

2.7.5 Identificação da planta por especialista

A identificação taxonômica das plantas foi realizada por botânica, pesquisadora e responsável pelo Herbário da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (PAMG)

As exsicatas (uma original e uma duplicata) foram confeccionadas com o material herborizado recebido, sendo a espécie determinada levando-se em consideração as características das exsicatas e fotografias das espécies em estudo. Estas informações foram confrontadas com chaves taxonômicas, descrições botânicas e exemplares de depositados nesse herbário e existentes no site REFLORA (2020), especialmente aqueles com determinação realizada por especialista na família ou gênero. Uma vez identificado, o material foi escaneado e o original e duplicata depositados no herbário sob a numeração de registro interno.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletados materiais para herborização de plantas adultas e estruturas que continham as unidades de dispersão de sete espécies de planta daninha, sendo obtidas após o beneficiamento de todas as espécies uma quantidade suficiente de unidades de dispersão para conseguir plantas jovens e para preparar 50 amostras contendo no mínimo 10 unidades de dispersão em cada amostra (Tabela 1).

Tabela 1: Número da espécie, local de coleta, data e tipo de estrutura coletada e quantidade de unidades de dispersão obtidas após beneficiamento.

Número da espécie	Dados da coleta					Número de sementes
	Local em Minas Gerais			Período de colheita 2019	Estrutura	
	Cidade	Latitude	Longitude			
305	Gouveia	18°26'39.26"S	43°44'26.83"O	Mar./Abr.	Fruto	864*
309	Gouveia	18°26'32.76"S	43°44'15.38"O	Abr.	Fruto	113.490
326	Montes Claros	16°43'43.76"S	43°51'11.45"O	Mar./Abr.	Capítulo	1.750
333	Belo Horizonte	19°56'18.30"S	43°58'40.69"O	Abr.	Panícula	13.800
360	Gouveia	18°26'40.27"S	43°44'26.01"O	Abr./Mai.	Capítulo	1.620
384	Viçosa	20°46'5.76"S	42°52'13.35"O	Mai.	Panícula	8.720
390	Gouveia	18°26'37.24"S	43°44'17.37"O	Jul.	Frutos	2.420

*Unidades de dispersão extraídas apenas de frutos maduros, com abertura espontânea e colhidos nas primeiras duas semanas.

Fonte: Criada pela autora com dados da pesquisa

No decorrer deste estudo serão apresentadas a identificação das espécies coletadas (305, 309, 326, 333, 360, 384 e 390) por diversas formas: da planta a campo, da unidade de dispersão (por referências bibliográficas e por comparação com amostras de coleções), da planta jovem, da identificação botânica feita por especialista e, ao final, a identificação conjunta levando-se em consideração todas as outras identificações realizadas e as características da planta como um todo.

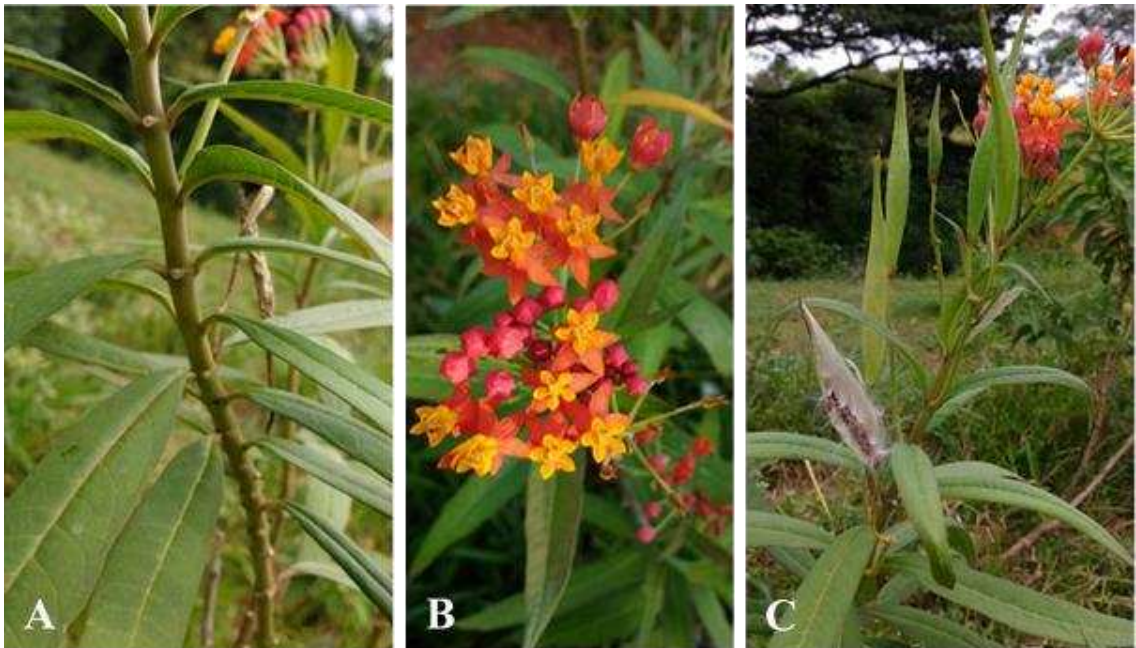
3.1 Identificação da espécie nº 305

3.1.1 Planta a campo

As características da planta da espécie nº 305 utilizadas para identificação como *Asclepias curassavica* L. foram as descritas por Lorenzi (2008) e Moreira e Bragança (2011): planta glabra, caule ereto, verde e lactífero, folhas simples, opostas cruzadas, com pecíolo curto, limbo longo-lanceolado com margem inteira (Figura 3A).

Inflorescência apresentando os pedúnculos das flores em tamanhos diferentes, contudo, terminando na mesma altura. Flores muito vistosas, de coloração vermelho-alaranjado ou amarelo intenso (Figura 3B). A produção de flores e frutos ocorreu concomitantemente, ao longo de vários meses (Figura 3C). Em 35 dias, três plantas produziram 105 frutos, ou seja, a produção média por planta foi de 35 frutos, cada um contendo em média 216 sementes.

Figura 3: Plantas da espécie nº 305. A Caule ereto com folhas simples, opostas cruzadas. B. Inflorescências vermelha-alaranjada-amarelas. C. Produção de flores e frutos ao mesmo tempo.

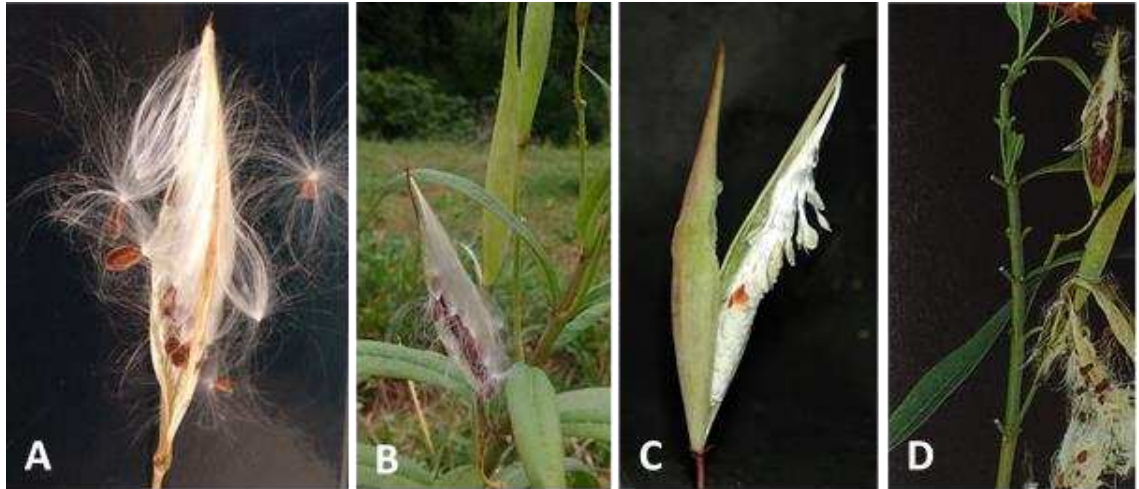


Fonte: Fotografia da autora.

A identificação desta espécie foi confirmada pelas características dos frutos: seco, fusiforme, carnosos, de coloração verde quando imaturos e que se tornam amarelados na época em que ocorre a deiscência por meio da abertura de uma linha longitudinal existente no fruto (Figura 4A e 4B). Dentro do fruto há um conjunto de filamentos compridos, sedosos, brancos e brilhantes (coma) que estão ligados às

sementes facilitando a dispersão destas pelo vento. Características semelhantes às aquelas descritas para a espécie *Asclepias curassavica* L. por Kissmann e Groth (1999) e CONABIO (2020) (Figura 4C e 4D).

Figura 4: A e B. Fruto da espécie 305 observados no campo; C. *Asclepias curassavica* L. D. *Asclepias curassavica* L.



Fonte: A, B, C. CONABIO (2020); D. Kissmann e Groth (1999).

3.1.2 Unidade de dispersão

3.1.2.1 Por referências bibliográficas

As unidades de dispersão da espécie nº 305 são as sementes verdadeiras, que possuem 5,8-6,8mm de comprimento, por 2,8-4,0mm de largura 0,6-1,0mm de espessura e coloração castanho-avermelhada. O formato é obovado, com base arredonda e ápice truncado e faces côncavo-convexas, com alas voltadas para a face ventral, lembrando uma concha. A superfície é fosca levemente rugosa, com pequenos tufos na parte dorsal e uma nervura longitudinal e central na face ventral. O tegumento é glabro exceto na face ventral, onde são observados longos pelos esparsos (Figuras 5A e 5B).

Figura 5: Sementes da espécie 305. A. Face dorsal, B. Face ventral.



Fonte: Fotografia da autora.

Em Lorenzi (2014) não são observadas sementes com tamanho e formato semelhantes à espécie 305. Já em Kissmann e Groth (1992, 1999, 2000) encontram-se descritas três espécies de Apocynaceae com sementes similares às sementes em estudo: *Asclepias curassavica*, L. *Calotropis procera* (Ait.) R.Br. e *Oxypetalum banksii* Roem. & Schult.

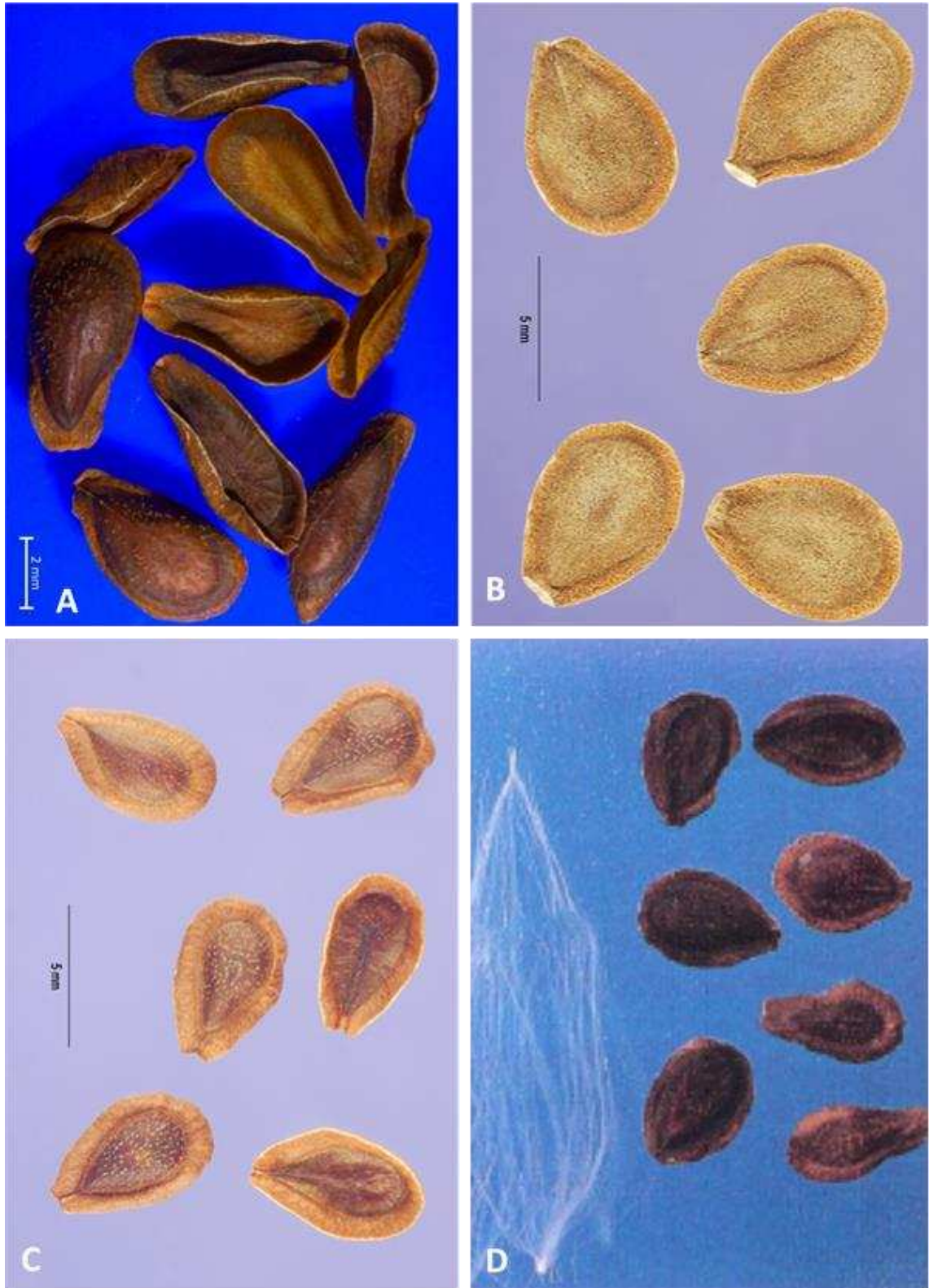
Outras três sementes semelhantes: *Asclepias syriaca*, *Vincetoxicum hirundinaria* e *V. nigrum* são encontradas em (Cappers, Bekker, & Jans, 2006), entretanto, não há registro de ocorrência dessas espécies no Brasil (USDA, 2020). Levando-se em conta as descrições (Tabela 2) e as fotografias das espécies existentes no Brasil (Kissmann & Groth, 1999, 2000; USDA, 2020), observa-se que as sementes em estudo (Figura 6A) não são de *Calotropis procera* (Figura 6B), pois a textura do tegumento das duas espécies é diferente (Figuras 6A e 6B). Portanto, a espécie nº305 pode ser de *Asclepias curassavica* (Figura 6C) ou de *Oxypetalum banksii* (Figura 6D). Porém, somente as descrições e fotografias das sementes disponíveis não possibilitam uma identificação confiável das sementes da espécie nº 305.

Tabela 2: Características das sementes da espécie 305 e de três espécies com sementes semelhantes que ocorrem no Brasil.

Espécie	Formato	Coloração	Textura	Tamanho
				Comprimento x largura x espessura
305	Obovada	Castanho- avermelhada, Castanho-chocolate	Levemente rugosa,	5,8-6,8 x 2,8-4,0 x 0,6-1,0 m
	Côncavo-convexo		Fosca, glabra	
	‘Concha’		Tricomas ventrais	
	Base arredondada		Dorso com	
	Ápice truncado		pequenas saliências	
	Ala virada para face ventral		Estria ventral Coma	
<i>Asclepias curassavica</i> L. ^{1,2,3,5}	Ovoide/Obovada	Castanho- avermelhada, Castanho-chocolate	Levemente rugosa,	4,0-6,5 x 2,0-4,0 mm 1,0-1,5mm (Fina)
	Plano convexa ou côncavo-convexo		Fosca,	
	‘Concha’		Dorso com	
	Base arredondada		pequenas saliências	
	Ápice truncado		Estria ventral	
	Rodeada por ala virada para face ventral		Coma 20mm	
<i>Calotropis procera</i> L (Aiton) W. T. Aiton ^{1,2,3}	Ovoide,	Castanha	Rugosa	5,0-7,0 x 3,0-4,0 mm Fina
	Achatada			
	Base arredondada			
	Ápice agudo			
	Rodeada por ala			
	Ovalado ou subovalado			
<i>Oxypetalum banksii</i> R.Br. ex Schult ⁴	Achatada	Castanha	Semelhante <i>A.curassavica</i>	4,5-6,0 x 1,3-3,5 mm Fina
	Base arredondada		Coma 20mm	
	Ápice subagudo			
	Rodeada por ala			

Fonte: Criada pela autora com dados extraído de ¹Leitão Filho *et al.* 1972; ²Kissman e Groth (1992), ³Kissman e Groth (1999), ⁴Kissman e Groth (2000), ⁵ Souza, Iwazaki e Oliveira (2004).

Figura 6: Comparação de sementes da família Apocynaceae A. Espécie nº 305 obtida no trabalho; B. *Calotropis procera* L. , C. *Asclepias curassavica* L. D. *Oxypetalum banksii* Roem. & Schult.



Fonte: A. Fotografia da autora; B,C. (USDA, 2020); D. Kissmann e Groth,(2000).

3.1.2.2 Comparação com amostras de coleções

Foram identificadas nas coleções do LASO-MG, sementes de duas espécies da família Apocynaceae por apresentarem tamanho, forma e cor semelhantes às sementes da espécie nº 305: *Asclepias curassavica* L. (amostra nº 160) e *Calotropis procera* (Ainton) W.T Aiton (amostra nº 318).

Ao comparar as sementes dessas amostras com as sementes em estudo, constatou-se que as sementes de *C. procera* são diferentes da espécie estudada por apresentarem tamanho maior, tonalidade mais clara e textura diversa (Figura 7A), com pelos curtos e densos em toda sua superfície (40X). Por outro lado, as características das sementes de *A. curassavica*, apesar da coloração mais escura, condizem com o observado nas sementes da espécie nº 305, inclusive a presença de pelos longos esparsos na face ventral e de pequenos tufos na face dorsal (Figuras 7B e 7C). Consequentemente, as sementes da espécie 305 foram identificadas como da espécie *A. curassavica*. Ressalta-se que esta identificação foi realizada com um bom grau de confiabilidade, pois a amostra nº 160 foi identificada por especialista em sementes, pesquisador do IAC do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e autor do livro Plantas infestantes de cultura.

Figura 7: Comparação de sementes da família Apocynaceae da coleção do LASO-MG com a semente da espécie 305 coletada no trabalho: A. *Calotropis procera* L (amostra nº 318); B. *Asclepias curassavica* L. (amostra nº 160); C. Sementes coletadas de *Asclepias curassavica* L. (amostra nº 305).



Fonte: Fotografia da autora

3.1.2.3 Comparação entre resultados dos tipos de identificação de unidades de dispersão

Pelas duas diferentes formas de identificação das sementes, chegou-se à conclusão que a espécie 305 não é de *Calotropis procera*, portanto, neste caso uma forma de identificação reforçou o resultado da outra.

Por outro lado, enquanto a identificação por comparação chegou à espécie *A. curassavica*, na identificação por referências bibliográficas não foi possível afirmar, se as sementes da espécie nº 305 são de *A. curassavica* ou *Oxypetalum banksii*. Esta situação ocorreu porque na coleção do LASO-MG não existe exemplares da espécie *O. banksii*, que, de acordo com a literatura, é muito semelhante à *A. curassavica*. Considerando apenas a identificação por sementes, e devido indisponibilidade de observar amostras da espécie *O. banksii*, que é uma espécie com registro de ocorrência no estado de Minas Gerais (REFLORA, 2020), pode-se inferir que, neste caso, a identificação por comparação com amostras da coleção não foi totalmente segura.

3.1.3 Planta jovem

Após a semeadura, a protrusão radicular a 25°C foi menor que 1%. Em contraste, na temperatura alternada de 20-30°C, a germinação iniciou-se no segundo dia após a semeadura, alcançado após 18 dias, uma porcentagem de germinação de 81%.

A germinação da espécie é fanerocotiledonar epígea fotossintetizante (Garwood, 1996; Ibarra-Manríquez, Martínez e Oyama, 2001). Primeiramente ocorre a protusão da raiz que é branca, pivotante e pilosa, depois o hipocótilo cresce e folhas cotiledonares desprendem-se do tegumento e expandem (Figura 8A e 8B).

Plântulas originadas de sementes germinadas transferidas para recipientes com substratos orgânicos iniciaram a emissão do primeiro par de folhas aos 11-13 dias após a semeadura, possibilitando a confecção de exsiccatas de plantas com primeiro par de folhas desenvolvido aos 21 dias (Figura 9A e 9B).

As plantas jovens apresentaram hipocótilo e epicótilos cilíndricos verde-claros, folhas cotiledonares semicarnosas, verde escuro, brilhantes e elípticas com base atenuada, ápice arredondado, margem inteira (Figuras 9A e 9B e 10A). Observando-se direta das plântulas, nota-se que as folhas cotiledonares apresentam nervura central

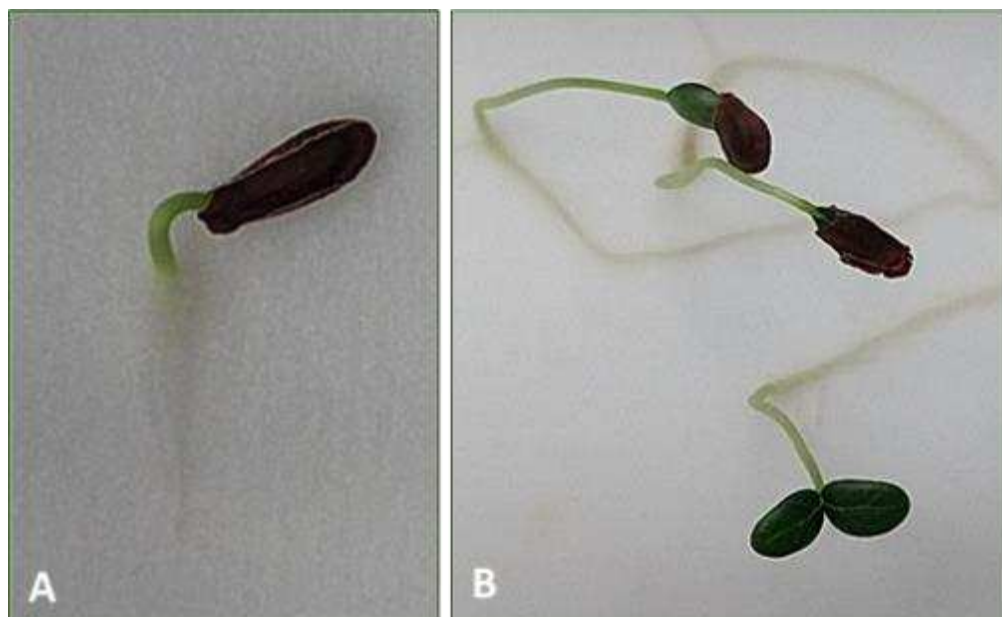
verde-claro e algumas nervuras secundárias pouco proeminentes que não alcançam as margens do limbo foliar (Figura 10B).

O primeiro par de folhas tem características semelhantes às cotiledonares quanto a cor, formato e espessura, porém diferenciado dessas devido ao ápice que na maioria das vezes é levemente anguloso, obtuso, quase agudo (Figura 9A, 9B e 10C). O epicótilo, pecíolo e margens da folha primária apresentam pilosidade, visível apenas ao microscópio-estereoscópio com aumento mínimo de 20 vezes (Figura 11A, 11B e 11C).

Sob esse aumento também é possível constatar que as folhas cotiledonares e primárias da espécie nº 305 tem superfície serícea (coberta por pelos muito finos e próximos, sempre adpressos), responsável pela aparência brilhante destas folhas quando observadas à distância (Figura 11C).

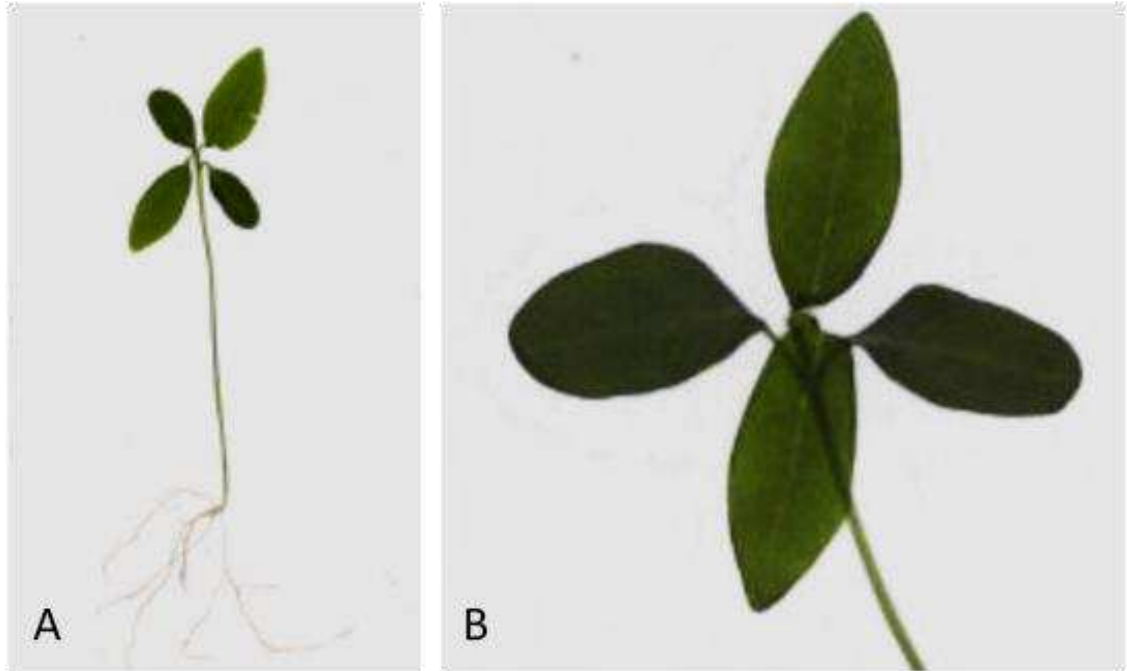
Plantas jovens com tais características não ocorrem em nenhuma das plântulas fotografadas por Lorenzi (2014), mas são, de uma forma geral, compatíveis com o desenho da plântula existente em Leitão Filho *et al.* (1972) e também com as descrições deste autor e de Kissmann e Groth, (1999) para a plântulas da espécie *Asclepias curassavica* L. Entretanto, não se observou na maioria das plântulas, ápices das primeiras folhas ligeiramente arredondados, como descrito por esses autores. Além disso, não foi encontradas na literatura nenhum registro fotográfico de plântulas no estágio estudado neste trabalho para confirmação das características desta espécie.

Figura 8: Espécie nº 305. A. Sementes emitindo hipocótilo; B. Plântulas com tegumento se desprendendo das folhas cotiledonares e plântula com folhas cotiledonares expandidas.



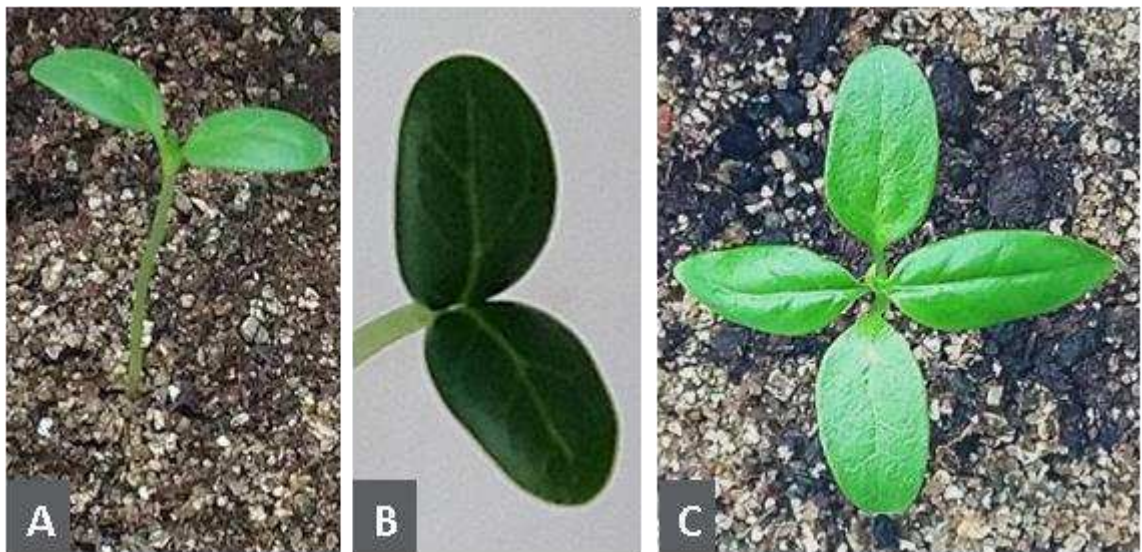
Fonte: Fotografia da autora.

Figura 9: Exsicata da planta jovem da espécie nº 305. A. Visão geral. B. Detalhes das folhas cotiledonares, das folhas primárias e do epicótilo.



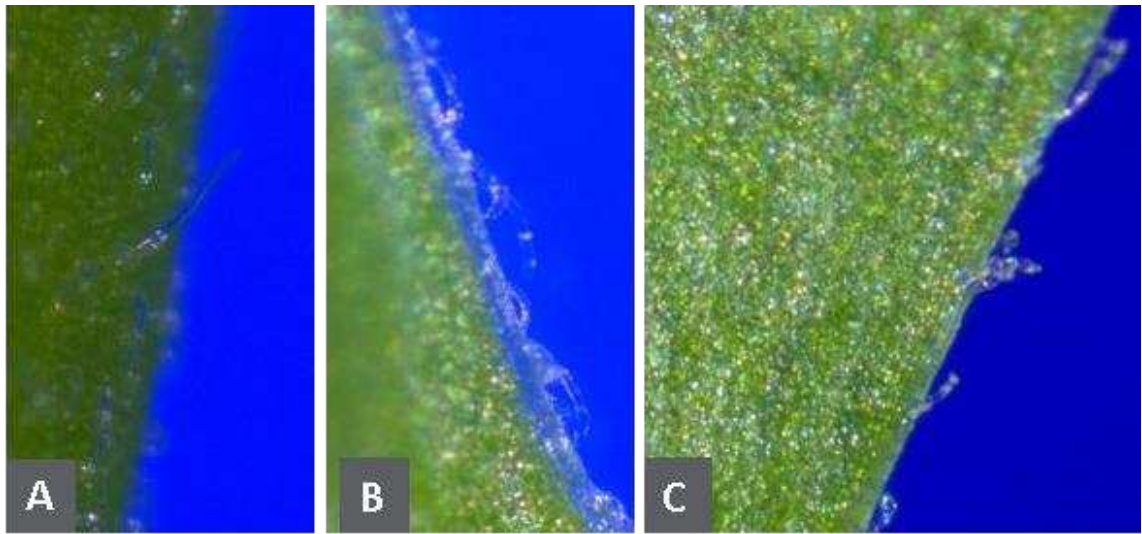
Fonte: Fotografia da autora.

Figura 10: Planta jovem da espécie 305. A. Emitindo folhas primárias. B. Detalhes das folhas cotiledonares. C. Com par de folhas primárias bem desenvolvido.



Fonte: Fotografia da autora.

Figura 11: Planta jovem da espécie 305 observada ao microscópio-estereoscópio (40X). A. Tricomas do epicótilo. B. Tricomas do pecíolo da folha primária; C. Folha primária com pilosidade nas margens e superfície seríceea.



Fonte: Fotografia da autora.

3.1.4 Identificação botânica por especialista

A espécie foi identificada por especialista como *Asclepias curassavica* L., da família Apocynaceae e sua exsicata foi depositada no herbário PAMG, pertencente à Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG (Figura 12).

Figura 12: Exsicata da espécie 305 com flores e frutos depositada em 20.11.2019 no Herbário PAMG, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG com registro 58784.e identificada por como *Asclepias curassavica* L



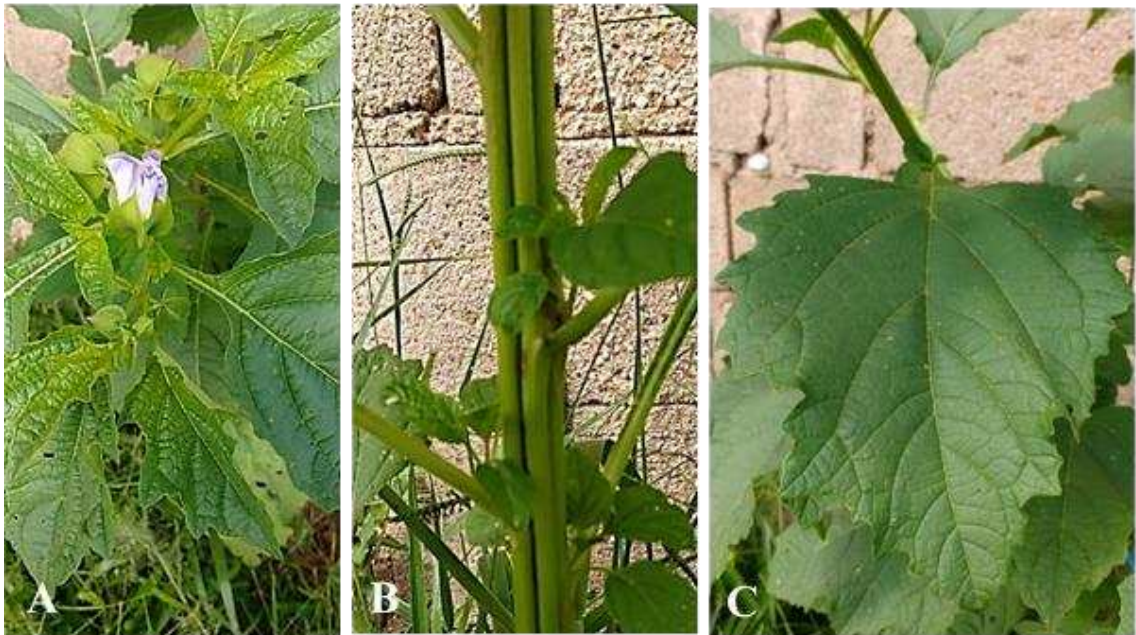
Fonte: Fotografia da autora.

3.2 Identificação da espécie nº 309

3.2.1 Planta a campo

As características que levaram a identificação da espécie nº 309 como *Nicandra physalodes* (L.) Gaertn. no campo foram: a presença de flores solitárias, pedunculadas, pendentes, com corola violácea em formato de sino e cálice com cinco lobos verdes, soldadas e bem desenvolvidas (Figura 13A); caule verde, glabro, fortemente sulcado em quatro seções (Figura 13B); folhas simples, alternas, de coloração verde-claro, ovaladas e com as margens irregularmente dentadas, glabras em ambas as faces (Figura 13C). Essas características são compatíveis a descrição e a fotografia de Lorenzi, (2014).

Figura 13: Características das plantas da espécie nº 309: A. Flores campanuladas violáceas com cálice verde; B. Caule fortemente sulcado; C. Folhas glabras, ovaladas com margens irregularmente dentadas.



Fonte: Fotografia da autora.

Essa identificação é confirmada pelas características dos frutos descritos por Leitão Filho *et al.* (1972); Kissmann e Groth (2000); CONABIO (2020). Esses frutos distinguem a espécie nº 326 de outras solanáceas por apresentarem cálices bem desenvolvidos que persistem em frutos maduros e recobrem todo o fruto e que possuem cinco lobos membranáceos, glabros, castanhos claros, ovados, de ápice acuminado e base cordada-soldada (Figuras 14A e 14B).

Os frutos são globosos, com pericarpo glabro, liso, papiráceo, de coloração castanho claro brilhante (Figura 14 C). Distinguindo-se dos frutos do gênero *Physalis* por

possuírem mais de dois lóculos, normalmente quatro, podendo variar de três a cinco (Figura 14D). Neste trabalho observou-se que os frutos permaneceram na planta, rompendo-se apenas tardiamente, momento em que as plantas entraram em senescência. Uma única planta, adulta, no final do ciclo, apresentou 291 frutos, cada fruto contendo em média 390 sementes.

Figura 14: Características dos frutos da espécie nº 309: A. Cálices persistentes que recobrem os frutos. B. Detalhes do cálice. C. Fruto com o cálice aberto. D. Fruto aberto mostrando 4 lóculos.



Fonte: Fotografias da autora.

3.2.2 Unidade de dispersão

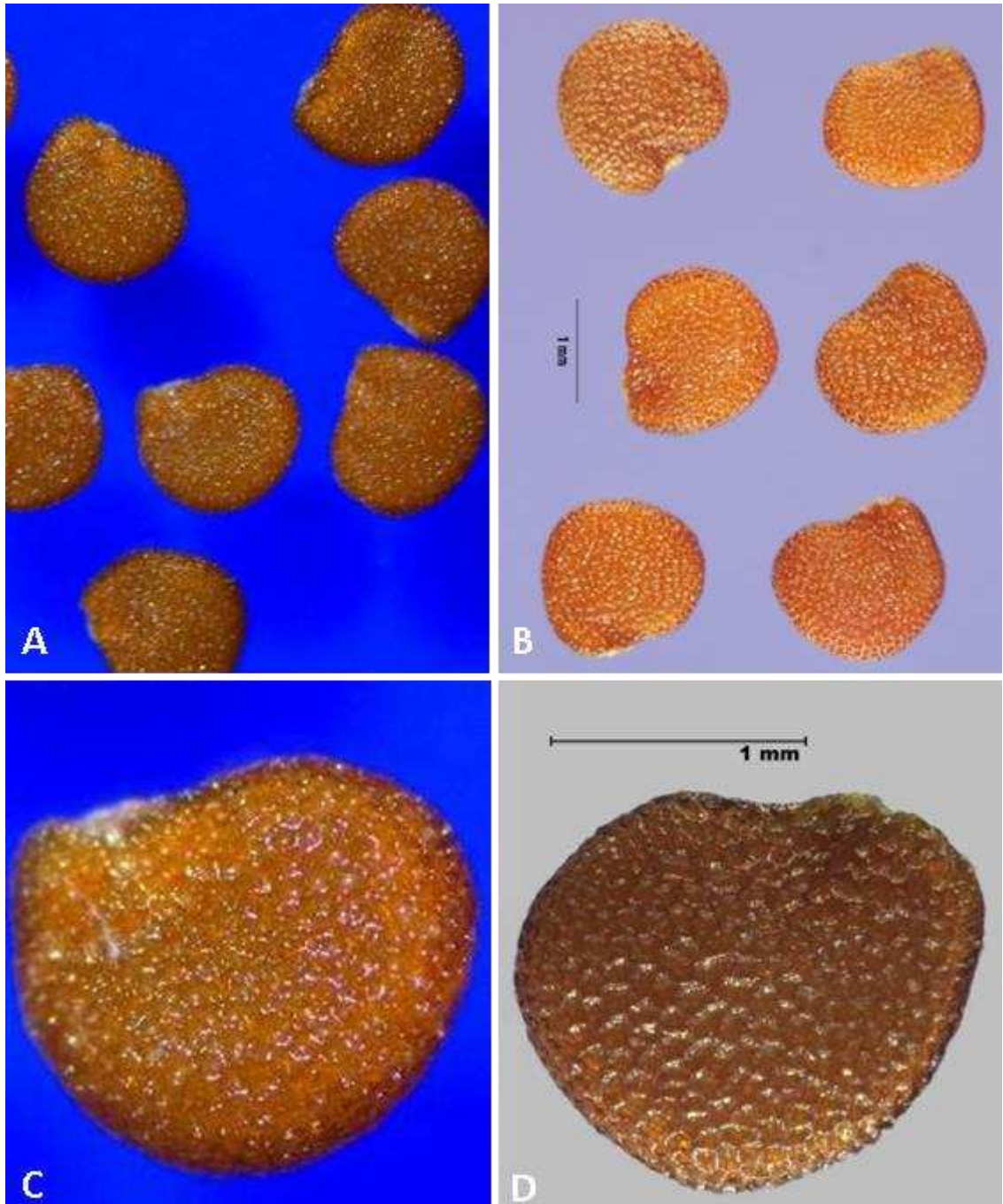
3.2.2.1 Por referências bibliográficas

As unidades de dispersão da espécie nº 309 são, em termos botânicos, as sementes. Apresentam-se comprimidas, com formato suborbicular ou subreniforme com dimensões entre 1,7 e 2,1 mm de comprimento por 1,0 a 1,8 mm de largura e espessura de 0,2 a 0,3 mm (Figura 15A). A superfície do tegumento tem coloração castanho avermelhada, é glabra, muito brilhante e fortemente reticulada, com células de bordos dos retículos ondulados e arredondados (Figura 15B.). O tamanho e formato destas sementes são semelhantes às de *Physalis angulata* L. e *Solanum americanum* Mill apresentadas por Lorenzi (2014). Em Kissmann e Groth (2000) encontram-se além destas, mais três espécies similares: *Nicandra physalodes* (L.) Gaertn., *Physalis pubescens* L. e *Physalis viscosa* L..

Considerando-se as sementes dessas cinco espécies, nota-se que as características da espécie nº 309 são equivalentes àquelas descritas por Kissmann e Groth (2000) para a espécie *Nicandra physalodes* (L.) Gaertn. A cor e formato também se ajustam à descrição morfológica desta espécie realizada por Lovely *et al.* (2007). Adicionalmente, as fotografias existentes em livro Cappers, Bekker, & Jans, (2006) e fotografias disponíveis em sites tidos como referência como o USDA (2020) (Figura 15C) e CANADA.CA (2020) (Figura 15D) confirmam esta identificação.

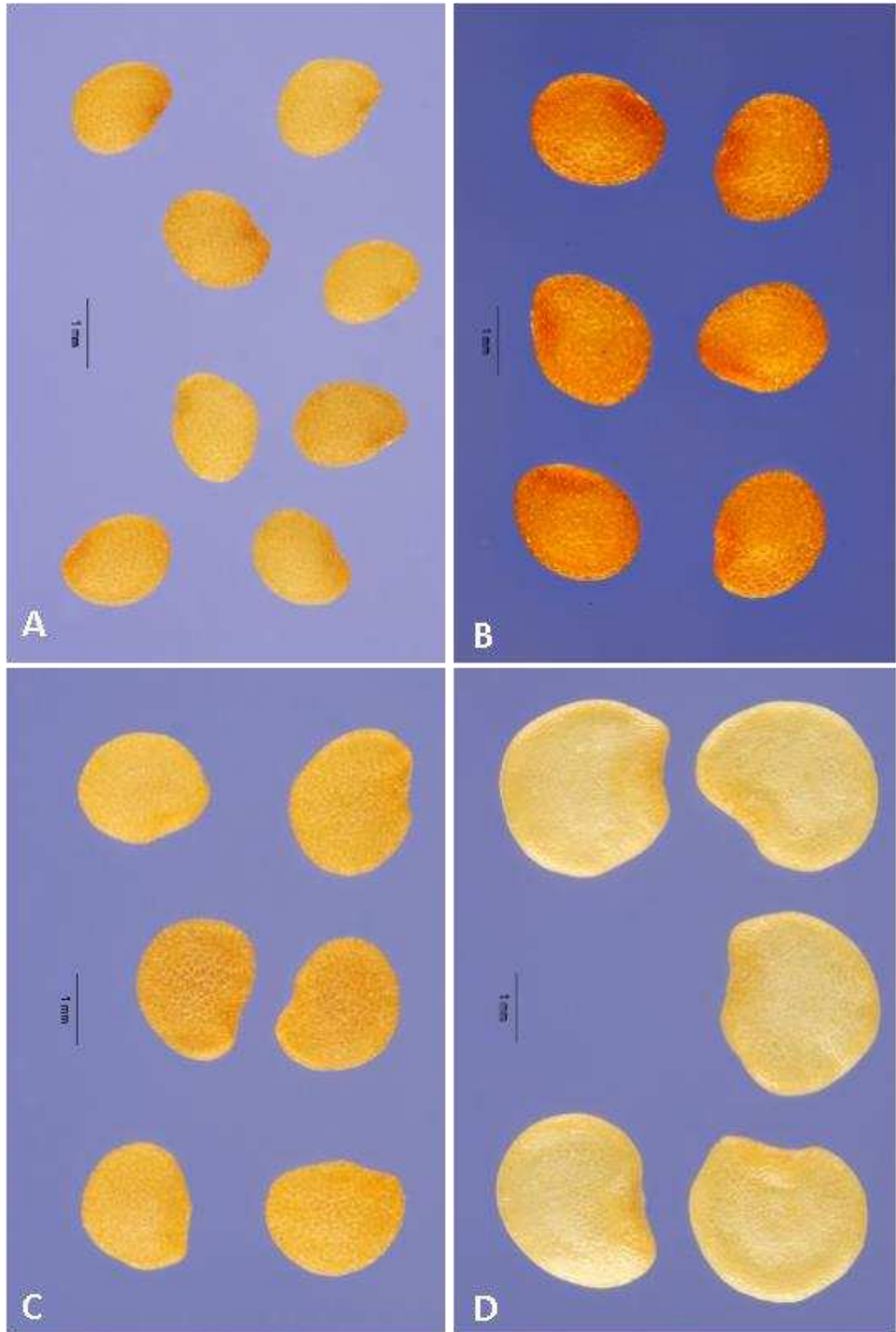
Por outro lado, as informações da literatura e fotografias disponíveis em sites confiáveis (Kissmann & Groth, 2000; USDA, 2020; CANADA.CA, 2020) mostram que, apesar de apresentar algumas semelhanças, a espécie em estudo se diverge de *Physalis angulata* L. (Figura 16A), e *Physalis pubescens* L. (Figura 16B), que apresentam coloração amarelada a castanho- amarelada e diferentes texturas. No mesmo sentido, difere da espécie *Physalis viscosa* L. cuja coloração é amarelo-dourada ou castanho-amarelada (Figura 16C) e de *Solanum americanum* Mill., cujas sementes apresentam tonalidade mais claras (amarelo-clara a amarelo-acinzentada ou castanho clara) e ausência de brilho (Figura 16D).

Figura 15: Sementes observadas em microscópio-estereoscópio: A. Visão geral da espécie 309; B. *Nicandra physalodes* (L.) Gaertn; C. Detalhe da espécie 309; D. *N. physalodes*



Fonte: A, C. Fotografia; B. (USDA, 2020); D. (CANADA.CA, 2020).

Figura 16: Fotografias de sementes semelhantes a espécie 309: *A. Physalis angulata* L.; *B. Phlysalis pubescens* L.; *C. Physalis viscosa* L.; *D. Solanum americanum* Mill.



Fonte: (USDA, 2020).

3.2.2.2 Comparação com amostras de coleções

A forma reniforme/arredondada, comprimida e textura das sementes da espécie 309 sugerem que se trata de sementes da família Solanaceae. Assim, as 33 amostras de sementes desta família existentes no LASO-MG foram observadas, sendo selecionadas 12 amostras que apresentavam tamanho e cor semelhantes às sementes da espécie em estudo: três pertencentes ao gênero *Physalis* (*P. angulata* L., *P. neesiana* Sendt. e *P. pubescens* L.), sete do gênero *Solanum* (quatro de *S. americanum* Mill., *S. bicuspidatum* L., *S. difflorum* Vell. e *S. mauritianum* Scop.) e duas amostras de *Nicandra physalodes* (L.) Pers.

Após comparação ao microscópio-estereoscópio das sementes da espécie nº 309 com as sementes das amostras listadas acima, concluiu-se que se trata da espécie *Nicandra physalodes* (L.) devido à correspondência com as características das sementes de duas amostras desta espécie existentes no LASO-MG (amostras nº 177 e 520).

Destaca-se entre essas características, além do tamanho, cor, formato e textura, a posição e o formato do hilo e a posição da micrópila (Figura 17). Além disso, os fragmentos de perianto presentes na amostra em estudo também são muito semelhantes ao perianto existente no frasco da embalagem de uma das amostras de *N. physalodes* do LASO-MG. Por outro lado, a exemplo das espécies *P. angulata* e *P. neesiana* (Figura 18), as outras espécies possuem coloração, tamanho e textura diversas.

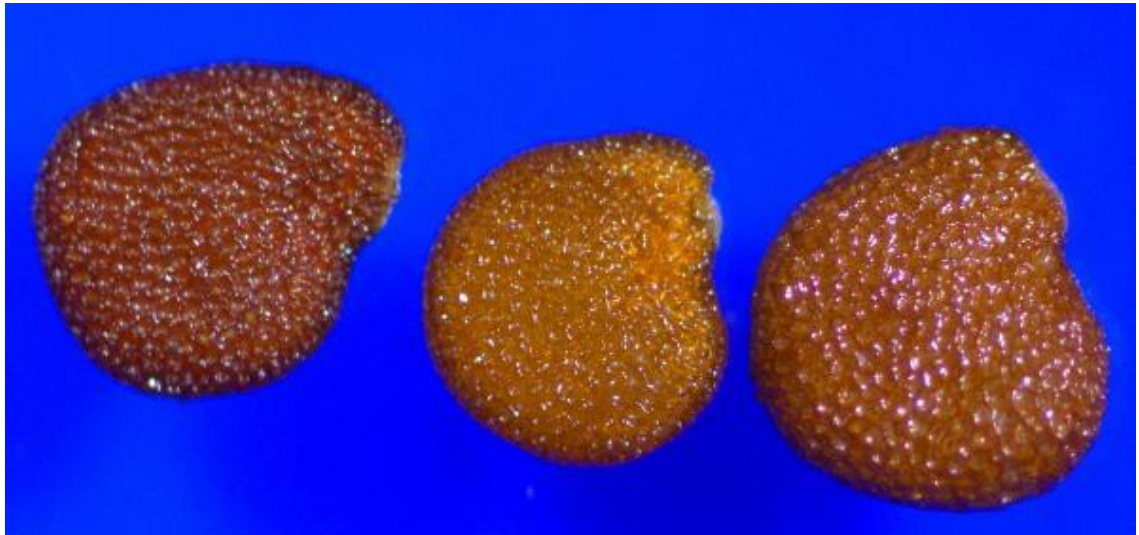
Ressalta-se que esta identificação pode ser considerada de grau de confiança muito bom, pois as características das sementes de *N. physalodes* são muito marcantes e não existem, nas coleções do LASO-MG, sementes de outras espécies que possam ser confundidas com esta. Para completar, a amostra nº 520, que serviu de apoio a esta identificação é certificada por especialista na área (Groth, 2003).

3.2.2.3 Comparação entre resultados dos tipos de identificação de unidades de dispersão

Utilizando-se as duas formas de identificação das sementes, chegou-se à conclusão de que a espécie 309 é *Nicandra physalodes*, portanto, uma das formas de identificação confirmou o resultado da outra. Adicionalmente, as duas formas ratificam que a espécie em estudo não são de duas espécies do gênero *Physalis* (*P. angulata* e *P. pubescens*) nem de *Solanum americanum*.

Além disso, por meio de referências bibliográficas foi possível afirmar que a espécie 305 não é *P. viscosa* e, por comparação com a coleção, pode-se excluir as espécies *P. neesiana* e *S. mauritianum*. Ou seja, as duas formas de identificação das sementes produziram resultados que se confirmaram ou se complementaram, tornando a identificação por semente mais exata.

Figura 17: Sementes observadas ao microscópio-estereoscópio: à esquerda, amostra nº 177 de *Nicandra physalodes* (L.) Gaertn existente no LASO-MG, ao centro, espécie 309 coletada neste estudo e à direita, a amostra 520 de *N. physalodes* da coleção do LASO-MG.



Fonte: Fotografia da autora.

Figura 18: Sementes observadas ao microscópio-estereoscópio: à esquerda, amostra nº 176 de *Physalis angulata* existente no LASO-MG, ao centro, espécie 309 coletada neste estudo e à direita, a amostra nº 178 de *Physalis neesiana* Sendt. da coleção do LASO-MG.



Fonte: Fotografia da autora.

3.2.3 Planta jovem

Após a sementeira, a protrusão radicular das sementes da espécie nº 309 foi menor 17% a 25°C, estabilizando-se aos 10 dias. Em contraste, na temperatura alternada de 20-30°C, a protrusão radicular máxima foi 79%. Nesta condição, a germinação iniciou-se no segundo dia após a sementeira, com dois picos de germinação, um aos 3-4º dias e outro 12-13º dias, estabilizando-se no 20º dia.

Primeiramente ocorre a protusão da raiz que é branca e pivotante. Em seguida o hipocótilo emerge, formando uma alça, depois se expande, as folhas cotiledonares desprendem-se do tegumento e se desenvolvem (Figura 19). De acordo com a classificação de Garwood (1996); Ibarra-Manríquez, Martínez e Oyama (2001) a germinação dessa espécie é fanerocotiledonar epígea fotossintetizante.

Plântulas originadas de sementes germinadas transferidas para recipientes com substratos orgânicos iniciaram a emissão do primeiro par de folhas aos 4-5 dias após a sementeira. Isto possibilitou a confecção de exsiccatas de plantas com primeiro par de folhas desenvolvido aos 19 dias e o segundo par de folhas aos 33 dias (Figura 20A e 20B).

As plantas jovens apresentam hipocótilo cilíndrico, brancacento ou esverdeado, folhas cotiledonares pecioladas, glabras, com formato lanceolado e coloração verde e nervura pouco evidente. As primeiras folhas também são pecioladas, verdes e glabras largo-ovaladas, com base atenuada, ápice varia entre obtuso/agudo e base atenuada, nervuras com tonalidade verde-amareladas, mais claras que o limbo (Figura 20A). As folhas subsequentes são semelhantes à primeira, porém com formato próximo ao deltoide (Figura 20B).

As características gerais da espécie nº 309 concordam com as descrições existentes na literatura para as plantas jovens de *Nicandra physalodes* L. Gaertn. (Leitão Filho *et. al.*, 1972; Kissmann & Groth, 2000). Entretanto, as ilustrações de plantas jovens disponíveis nestas referências e em Lorenzi (2014) apresentam plantas de *N. physalodes* em estágios mais avançados, o que impede a confirmação da identificação por este recurso e torna esta identificação menos segura. Por outro lado, a planta jovem da espécie nº 309 apresenta características divergentes das plantas jovens de *Physalis pubescens* L. e *Physalis viscosa* L., que mostram pilosidade e também de *Physalis angulata*, que possui folhas cotiledonares com formato ovalado-arredondado (Leitão

Filho *et al.* 1972; Kissmann & Groth, 2000). Dessa forma, pode-se afirmar que a espécie nº 309, não é de nenhuma destas três espécies do gênero *Physalis*.

Figura 19: Espécie nº 309. Plântula com hipocótilo sendo emitido e folhas cotiledonares de outra plântula expandida.



Fonte: Fotografia da autora.

Figura 20: Exsicata da planta jovem da espécie nº 309. A. Planta com folhas cotiledonares e o primeiro par de folhas. B. Planta com primeiro e segundo par de folhas.



A

B

Fonte: Fotografia da autora.

3.2.4 Identificação botânica por especialista

A espécie nº 309 foi identificada por especialista como *Nicandra physalodes* (L.) Gaertn. da família Solanaceae e sua exsicata foi depositada no herbário PAMG, pertencente à Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG (Figura 21).

Figura 21: Exsicata da espécie 309 depositada em 20.11.2019 no Herbário PAMG, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG com registro 58785 e identificada como *Nicandra physalodes* (L.) Gaertn..



Fonte: Fotografia da autora.

3.3 Identificação da espécie nº 326

3.3.1 Planta a campo

Observando as indicações de Lorenzi (2014), a característica determinante para diferenciar no campo a espécie em estudo de *Bidens pilosa* L, identificando-a como *Bidens subalternans* DC. foi a ocorrência de quatro aristas na grande maioria dos aquênios observados (Figura 22A).

Contudo, como pode ser observado na Figura 22B, também auxiliaram na identificação as características gerais da planta como caule ereto, com ramificações geralmente alternadas na parte superior; folhas pecioladas de limbo composto por três, cinco ou 7 folíolos; inflorescências do tipo capítulo, inseridas nas extremidades dos ramos e nas axilas foliares sendo botões florais de coloração amarela (com flósculos e lígulas amarelas) com lígulas maiores nas flores periféricas (Lorenzi, 2014; Kissmann & Groth, 1999). No presente trabalho duas plantas produziram, num período de duas semanas, 50 capítulos, cada capítulo contendo em média, 35 aquênios.

Figura 22: Características das plantas da espécie nº 326: A. Capítulos com aquênios 4-aristados; B. Folhas pecioladas compostas, alternadas na parte superior e botões florais amarelos.



Fonte: Fotografia da autora.

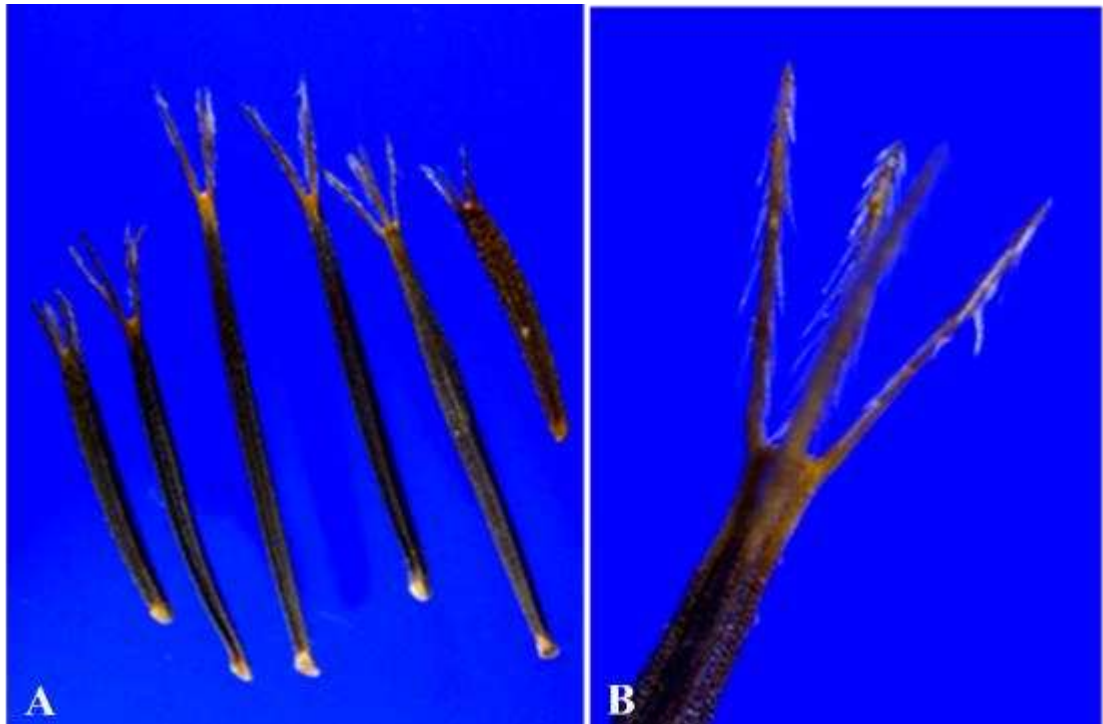
3.3.2 Unidade de dispersão

3.3.2.1 Por referências bibliográficas

A espécie nº 326 apresenta unidades de dispersão do tipo aquênios lineares polimórficos, sendo os frutos centrais longos e finos, enquanto os marginais apresentam-se curtos, mais largos e tuberculados/pilosos (Figura 23A). Os frutos mais longos são a maioria e medem 8,3-10mm de comprimento, 0,9-1,1mm na porção mais larga e 0,3-0,4mm na porção mais estreita, enquanto os mais curtos possuem 5,5-5,8mm de comprimento por 1,0-1,2mm na porção mais larga e 0,4-0,6mm na porção mais estreita. Os aquênios mais curtos em geral têm aristas também mais curtas.

Esses aquênios possuem forma tetragonal, com dois sulcos e três costelas longitudinais em cada face, pericarpo fino, negro, levemente rugoso, com pelos esbranquiçados esparsos ou mais concentrados no ápice nos frutos mais curtos; a base possui um carpódio grande e oblíquo de coloração mais clara (creme). Todos os aquênios da amostra apresentaram quatro aristas medindo entre 2,3-3,5mm nos maiores 1,3-2,0, nos frutos mais curtos (Figura 23A e 23B).

Figura 23: Aquênios da espécie 326. A. Diversidade de morfológica; B. Detalhes da arista.



Fonte: Fotografia da autora.

As aristas são duras, pontiagudas, divergentes, geralmente de coloração mais clara que o corpo dos aquênios e possuem pelos rígidos, hialinos e retrorsos (Figura 23B). Tais características estão de acordo com a descrição da espécie *Bidens subalternans* DC., de Kissmann e Groth, (1999), Moreira e Bragança (2011), Lorenzi (2014) e Bogosavljević e Zlatković (2015), inclusive a predominância de aquênios 4-aristados.

Apesar dos aquênios de *B. subalternans* serem individualmente muito semelhantes aos de outros do mesmo gênero, o que dificulta a identificação individual de aquênios, as amostras geralmente podem ser diferenciadas por algumas características intrínsecas e predominantes, conforme Kissmann e Groth (1999). Em se tratando de *Bidens alba* (L) DC., a diferenciação ocorre em função dos aquênios possuírem apenas duas aristas (Figura 24A). Em relação a *Bidens pilosa* L., a distinção se dá devido aos aquênios desta espécie possuírem comumente duas a três aristas e, apenas excepcionalmente, quatro aristas (Figura 24B).

A distinção entre a espécie nº 326 e *Bidens bipinnata* L. tornar-se mais complexa, dado que a literatura reporta frequências de números de aristas muito diversos para esta espécie (Korkmaz, Mumcu e Alkan, 2011) e literatura citada por este; lhg..m (2020); Lucidcentral, (2020), havendo possibilidade de que a maioria dos aquênios ou a totalidade destes seja 4-aristados, como foi observado na espécie em estudo. Essa variação no número de aristas de *B. bipinnata* pode ser observada também em fotografias existentes em sites (Figura 25A e 25B). Ou seja, não é possível utilizar o número de aristas predominante para diferenciar essas duas espécies.

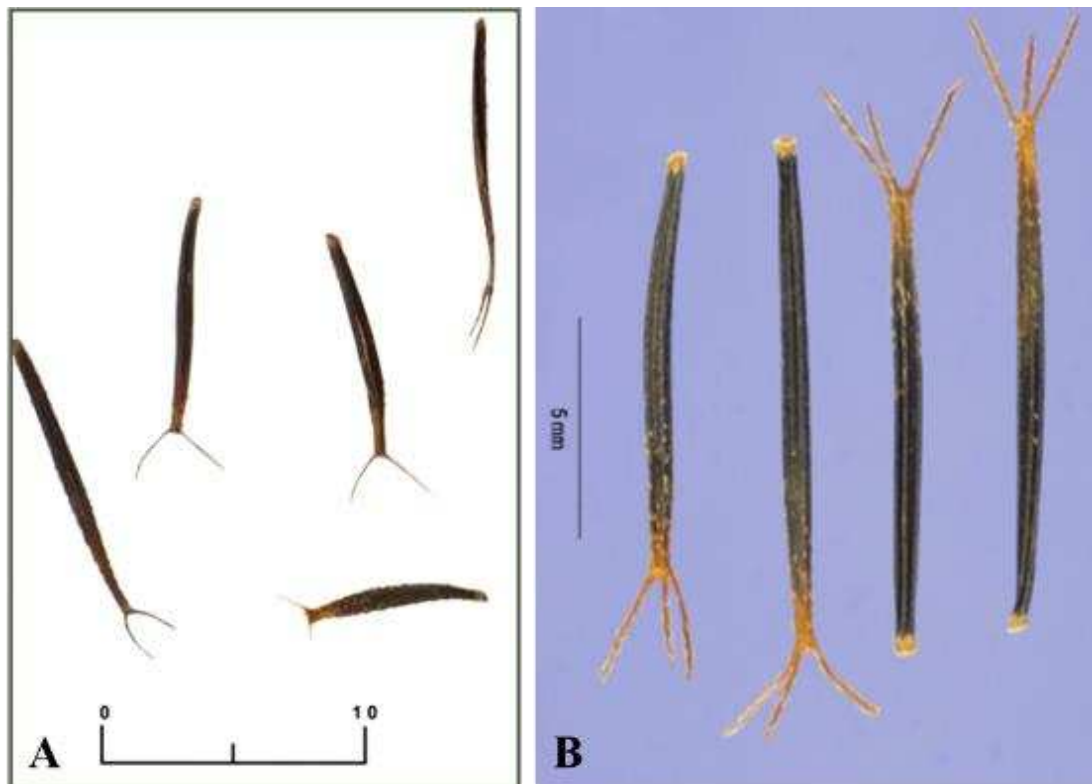
Por outro lado, os aquênios de centrais *Bidens bipinnata* L. têm comprimento de 10-18 mm (Tutin, 1976; Korkmaz, Mumcu e Alkan, 2011) e os radiais de 8-12 mm, sendo, portanto, de uma forma geral, mais longos que os da espécie 326. Contudo, essa diferença de comprimento é pequena, inclusive os comprimentos dos aquênios mais longos da espécie em estudo são muito semelhantes aos mais curtos de *B. bipinnata*. Desta forma, essa característica não parece ser suficiente para se afirmar que os aquênios da espécie em estudo não são de *B. pinnata*.

Dentre as outras oito espécies do gênero *Bidens* com registro de ocorrência em Minas Gerais, os aquênios da espécie nº 326 não podem ser de *Bidens brasiliensis* Sherff., *Bidens flagellaris* Baker, *Bidens graveolens* Mart., *Bidens segetum* Mart. ex. Colla e de *Bidens urophylla* Sherff) porque estas cinco espécies apresentam aquênios 2-

aristados ou 2 ou 3-aristados (REFLORA, 2020). É diferente ainda *Bidens riparia* Kunth que possui aquênios 3-5 aristados (Bringel & Cavalcanti, 2009).

Igualmente, não é plausível que sejam da espécie *Bidens gardneri* Baker, pois seus aquênios, apesar de 4-aristados como a espécie em estudo, são considerados glabros (REFLORA, 2020). Também não podem ser de *Bidens cynapiifolia* Kunth porque seus aquênios 4-aristados se distinguem das outras espécies por serem recurvados (Marques & Nakajima, 2015; REFLORA, 2020).

Figura 24: A. Aquênios de *Bidens alba* (L.) DC. mostrando sempre duas aristas. B. Aquênios de *Bidens pilosa* L.



Fonte: A. (adaptado de Wildflower Center, 2020); B. (USDA, 2020).

Figura 25: Aquênios de *Bidens bipinnata* L. A. Com três e quatro aristas; B. Com duas ou três aristas.



Fonte: A. (Lucidcentral, 2020); B. (USDA, 2020).

3.3.2.2 Comparação com amostras de coleções

Os aquênios aristados, unidades de dispersão da espécie nº 326, são típicos da família Asteraceae. Das 149 amostras de sementes dessa família existentes no LASO-MG foram selecionadas, para comparação em microscópio-estereoscópio, seis amostras do gênero *Bidens*, por possuírem aquênios semelhantes à espécie em estudo (cor preta ou quase preta, formato linear, aristas e dimensões semelhantes).

Todas as seis amostras apresentaram aquênios polimórficos (Figura 26A a 26F), especialmente quanto ao comprimento (Tabela 2) e textura do pericarpo, ocorrendo aquênios relativamente mais longos (finos, glabros ou com pilosidade esparsa) e aquênios mais curtos (mais grossos, tuberculados e/ou mais pilosos). Em algumas amostras houve também variação no número de aristas por aquênio (Tabela 2). Aquênios polimórficos ocorrem também na espécie em estudo (Figura 27A e 27B).

Tabela 3: Características polimórficas das amostras do gênero *Bidens*, coletada neste trabalho e existentes na coleção do LASO-MG.

Amostras		Aquênios			% de aquênios por			
Espécie	Nº	Qtde	% Por tipo		número de aristas			
		¹	Longos	Curtos	2	3	4	+4
<i>Bidens pilosa</i> L. ²	007	69	78,3	21,7	5,8	65,2	28,9	0,0
<i>Bidens pilosa</i> L. ³	502	16	25,0	75,0	0,0	87,5	12,5	0,0
<i>Bidens pilosa</i> L. ⁴	I-170	117	91,5	8,5	8,5	47,0	27,4	17,1
<i>Bidens subalternans</i> DC. ²	172	251	83,7	16,3	0,0	0,0	100,0	0,0
<i>Bidens subalternans</i> DC. ³	503	130	91,5	8,5	0,0	0,0	100,0	0,0
<i>Bidens bipinnata</i> L. ²	108	102	82,4	17,6	0,0	0,0	100,0	0,0
A identificar (coletada)	326	779	83,3	16,7	0,0	0,0	100,0	0,0

¹ Quantidade de aquênios na amostra; ²Amostra da coleção do LASO-MG originada de Bacchi, O.; ³Amostra da coleção do LASO-MG, certificada por Groth, D., Brasil; ⁴Amostra da coleção ISTA do LASO-MG, certificada por Leist, N., Alemanha.

Fonte: Elaborada pela autora.

À exceção dos aquênios da amostra 108, identificados como de *Bidens bipinnata* L, que se distinguem facilmente dos demais, as amostras das outras duas espécies apresentam frutos muito semelhantes, sendo muito difícil a diferenciação de aquênios isolados.

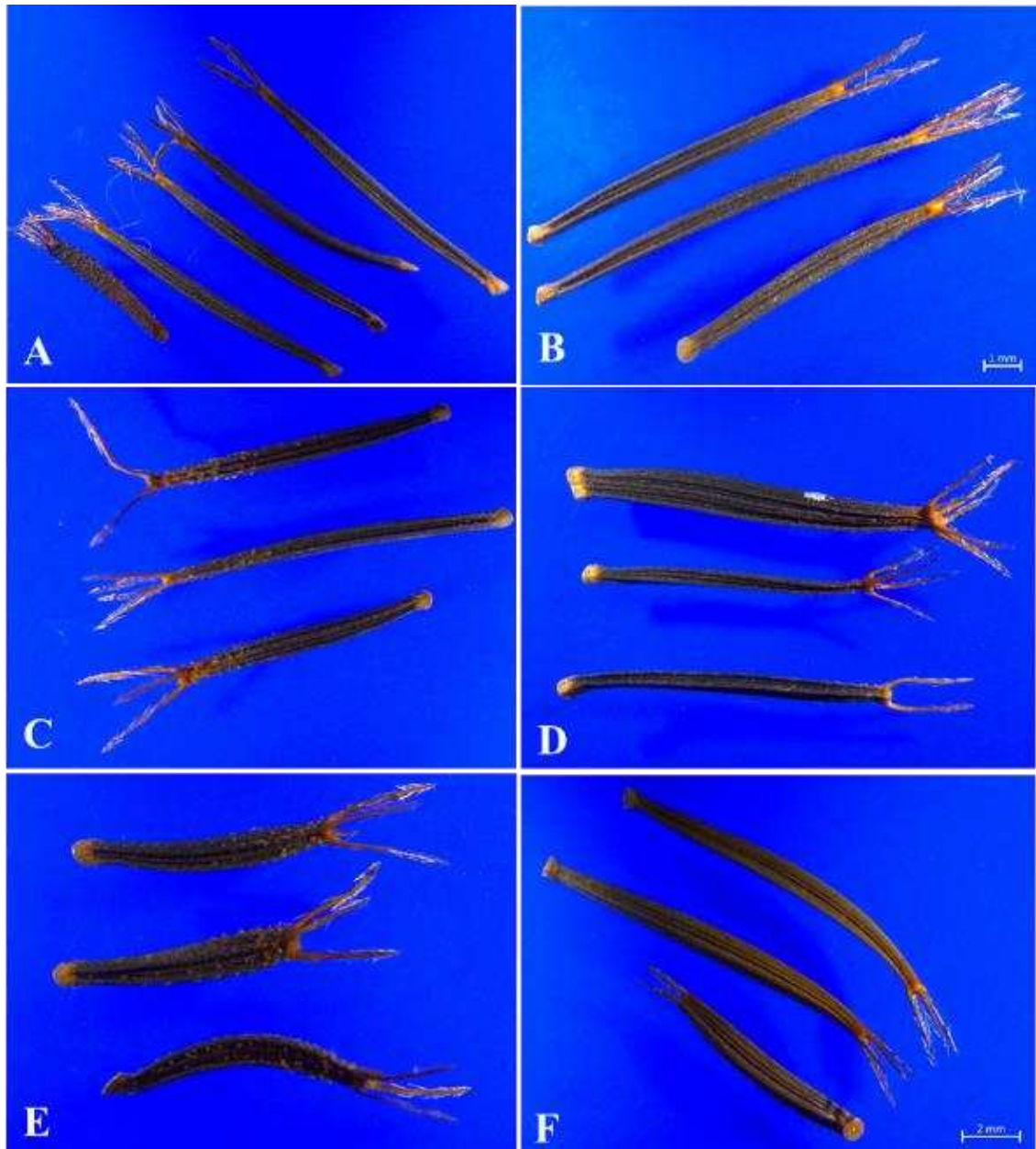
Observando-se todos os aquênios das amostras (Tabela 3), percebeu-se que a porcentagem de aquênios com certo número de aristas varia entre as espécies *Bidens pilosa* L. e *Bidens subalternans* DC.; com as amostras desta última espécie possuindo 100% dos aquênios com quatro aristas (Figura 26A e 26B) enquanto as amostras de *B. pilosa* apresentam predominância de aquênios com três aristas, mas contêm também aquênios com duas, quatro e, na amostra da coleção nº I-170, até mais de quatro aristas (Figura 26C a 26E).

Desta forma, levando-se em consideração as constatações acima, identifica-se a amostra da espécie nº 326 (Figura 27A e 27B), como *Bidens subalternans* DC., por todos os seus aquênios possuírem quatro aristas como os desta espécie. Esta identificação foi realizada com uma boa confiabilidade, pois uma das amostras da desta espécie foi coletada por Bacchi, O. (amostra 172) e certificada por Groth, D. (amostra 503), sendo utilizadas duas amostras de *B. pilosa* certificadas nesta comparação.

Ressalta-se que, embora os aquênios da amostra 108, identificada como de *B. bipinnata*, sejam 4-aristados, como a espécie nº 326, seus aquênios se diferenciam dos desta espécie por serem glabros, fusiformes e quase sempre mais comprimidos e largos (8,3-12mm, maior largura 1,1-1,4mm, menor largura 0,6-1,0mm). Ademais, o ápice dos aquênios (papus e aristas) da espécie 107 tem coloração aproximadamente igual à do pericarpo (Figura 26F), enquanto o ápice dos aquênios da espécie em estudo tem tonalidade mais clara (Figura 27A). As aristas dos aquênios da amostra 108 também são mais eretos que os da espécie em estudo.

Os aquênios divergem também em relação a textura do pericarpo, pois nenhum da espécie de *B. bipinnata* apresentam textura tuberculada, como ocorrem nos aquênios mais curtos da espécie em estudo. Pode-se observar também, em microscópio-estereoscópio (40X), que o pericarpo amostra 108 tem coloração preto acinzentada e mais uniforme enquanto a espécie nº 326 e as demais espécies de *Bidens* existentes na coleção do LASO-MG têm pericarpo de coloração marrom avermelhada, com pintas pretas.

Figura 26: Aquênios do gênero *Bidens* existentes na coleção do LASO, apresentando polimorfismo: A. *Bidens subalternas* DC. amostra 172; B. Amostra 503 de *B. subalternas*; C. *Bidens pilosa* L. 007; D. Amostra n° I-170 de *B. pilosa*; E. Amostra n° 502 de *B. pilosa*; F. Amostra n° 108 de *Bidens bipinnata* L.



Fonte: fotografias da autora.

Figura 27: Aquênios da espécie nº 326. A. Aquênios diversos; B. Aquênios curtos, tuberculados e pilosos no ápice, com frequência de 16,7% na amostra observada.



Fonte: fotografias da autora.

3.3.2.3 Comparação entre resultados dos tipos de identificação de unidades de dispersão

Quando se realizou a identificação das sementes por referências bibliográficas, foi possível obter informações dos aquênios de todas as 12 espécies do gênero *Bidens* com registro de ocorrência no estado de Minas Gerais e excluir a chance de que a espécie nº 326 fosse de 10 destas espécies; concluindo-se que os aquênios da espécie em estudo são muito provavelmente de *Bidens subalternans* DC., com apenas uma pequena chance de ser de *Bidens bipinnata* L..

Em contraste, a identificação por comparação com amostras de coleções foi realizada utilizando-se apenas amostras das três espécies existentes nas coleções do LASO, não tendo sido consideradas as outras nove espécies que ocorrem em Minas Gerais. Nesse universo, a espécie 326 foi identificada como *Bidens subalternans* DC., sendo excluída a possibilidade desta espécie ser *Bidens pilosa* L. e de *B. bipinnata*, pois, apesar dos aquênios desta última espécie serem 4-aristados, suas características morfológicas são diferenciadas.

Assim, as duas formas de identificação, por referência e por comparação, se complementaram, proporcionando o exame das características de todas as espécies existentes em Minas Gerais, ao mesmo tempo em que foi possível observar

detalhadamente ao estereomicroscópio, duas amostras de *B. subalternans*, três amostras de *B. pilosa* e uma amostra de *B. bipinnata*.

Então, tudo parecia indicar que a espécie nº 326 fosse com certeza de *B. subalternans*, pois teria sido eliminada a possibilidade desta espécie ser *B. bipinnata*. Porém, quando foram confrontadas as características dos aquênios da amostra do LASO de *B. bipinnata* (Figura 26F do item 3.3.2.2) com fotos (Figura 25A e 25B do item 3.3.2.1) e descrições obtidas por referências bibliográficas, resumidamente mostrados no subitem 3.3.2.1, verifica-se que há muitas divergências, especialmente quanto ao formato (os aquênios da coleção são fusiformes) e na textura do pericarpo (ausência de aquênios tuberculados e de pelos nos aquênios da amostra 108 da coleção).

Também diferem na cor do ápice, pois nos aquênios da amostra da coleção, o pappus e as aristas não têm tonalidade mais clara que o pericarpo, na pilosidade (os aquênios da amostra 108 da coleção são totalmente glabros) e na cor do pericarpo observada no aumento de 40X (nos aquênios da coleção não se observa a coloração castanho avermelhada/castanho escuro, mas sim, preto acinzentado). A ocorrência de todos os aquênios com quatro aristas, observada na amostra 108 da coleção do LASO-MG, também não é o mais frequentemente relatado para *B. bipinnata*, embora tenha sido observada por Korkmaz, Mumcu e Alkan, (2011).

As divergências na morfologia citadas acima sugerem que a amostra nº 108 de *B. bipinnata* da coleção, talvez tenha sido identificada erroneamente. Por outro lado, não se pode excluir totalmente a possibilidade das características da amostra nº 108 sejam realmente de *B. bipinnata* e que ocorra variação para estas características dos aquênios dessa espécie, as quais não foram ainda registradas na literatura.

3.3.3 Planta jovem

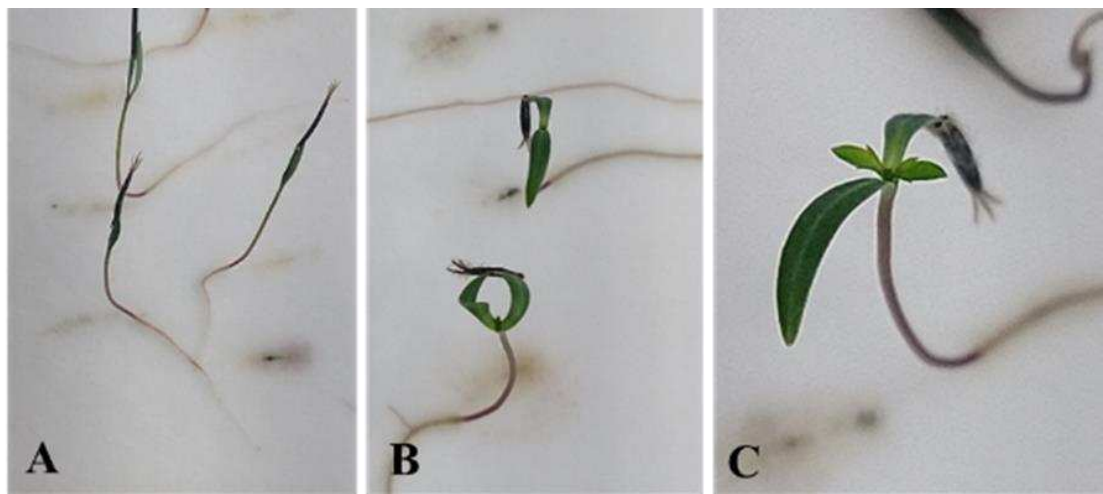
Após a semeadura, a protrusão radicular das sementes da espécie nº 326 foi menor (14%) a 25°C. Nesta temperatura a germinação se iniciou no 13º dia e se estabilizou aos 20 dias. Em contraste, na temperatura alternada de 20-30°C, a protrusão radicular foi 87%, iniciando-se 12 horas após a semeadura, com um pico aos 2-5 dias, estabilizando-se também aos 20 dias.

Primeiramente ocorre a protusão da raiz que é branca, pilosa e pivotante. Em seguida, o hipocótilo com coloração púrpura emerge e cresce, depois as folhas cotiledonares se distendem de forma oposta. Frequentemente o pericarpo se mantém

preso a uma das folhas cotiledonares mesmo após a expansão (Figura 28). De acordo com a classificação de Garwood (1996); Ibarra-Manríquez, Martínez e Oyama (2001), a germinação dessa espécie é fanerocotiledonar epígea fotossintetizante.

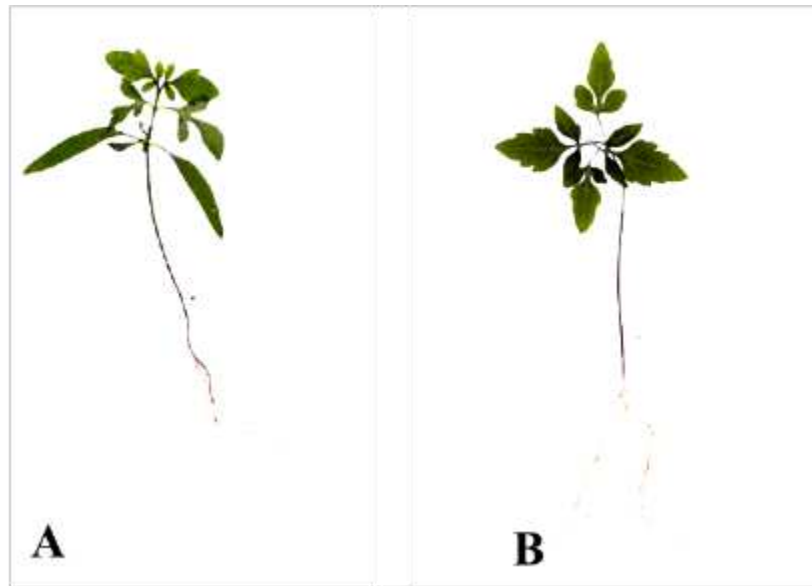
Plântulas originadas de sementes germinadas transferidas para recipientes com substratos orgânicos iniciaram a emissão do primeiro par de folhas aos 9-12 dias após a semeadura, possibilitando a confecção de exsicatas de plantas com dois pares de folhas desenvolvidos aos 37 dias (Figura 29A e 29B).

Figura 28: Plântulas da espécie nº 326. A. Hipocótilos avermelhado e folhas cotiledonares emitidas, ainda presas no pericarpo do aquênio; B. Folhas expandindo e expandidas; C. Emissão do primeiro par de folhas com pericarpo ainda aderido a uma folha cotiledonar.



Fonte: fotografias da autora.

Figura 29: Exsicata da planta jovem da espécie nº 326. A. Planta com folhas cotiledonares e segundo e terceiro par de folhas. B, C. Planta segundo e terceiro par de folhas.



Fonte: fotografias da autora.

As plantas jovens da espécie nº 326 apresentaram hipocótilo cilíndrico, purpúreo ou verde; as folhas cotiledonares sésseis e lineares (mais largas próximo ao meio, com margens paralelas); as folhas verdadeiras são lobadas, brilhantes, de coloração verde e opostas, sendo os pares sucessivamente cruzados.

As folhas do primeiro par são trilobadas, possuem um lobo frontal levemente lobado e os dois laterais têm margem inteira, com forma elíptica/oval e ápice obtuso/arredondado. O lobo frontal é um pouco maior que os dois laterais. As folhas do segundo par têm alguma semelhança como as do primeiro, contudo, nestas o lobo frontal é maior que no primeiro par e têm ápice obtuso.

As folhas dos pares subsequentes são iguais às anteriores. Porém, salienta-se que com o desenvolvimento das plantas e emissão de outros pares de folhas, observou-se que os lobos laterais aumentaram de tamanho, ficando com dimensões muito próximas do lobo frontal. Esta situação ocorreu inclusive no primeiro par de folhas. As particularidades das plantas jovens da espécie nº326 podem ser observadas nas Figuras 29A, 29B, 30A, 30B, 30C e 30D.

As características da planta jovem da espécie 326 se assemelham com a descrição de *Bidens subalternans* DC. var. *subalternans* e *Bidens pilosa* L, também com a fotografia dessas e da planta jovem de *Bidens alba* (L.) DC (Kissmann & Groth 1999), sendo as folhas cotiledonares das duas primeiras espécies citadas iguais às da espécie em estudo (Figura 30A a 30H). Ademais, todas as três espécies possuem folhas

verdadeiras opostas e lobadas como as plantas jovens da espécie 326, indicando que se trata de uma espécie deste gênero.

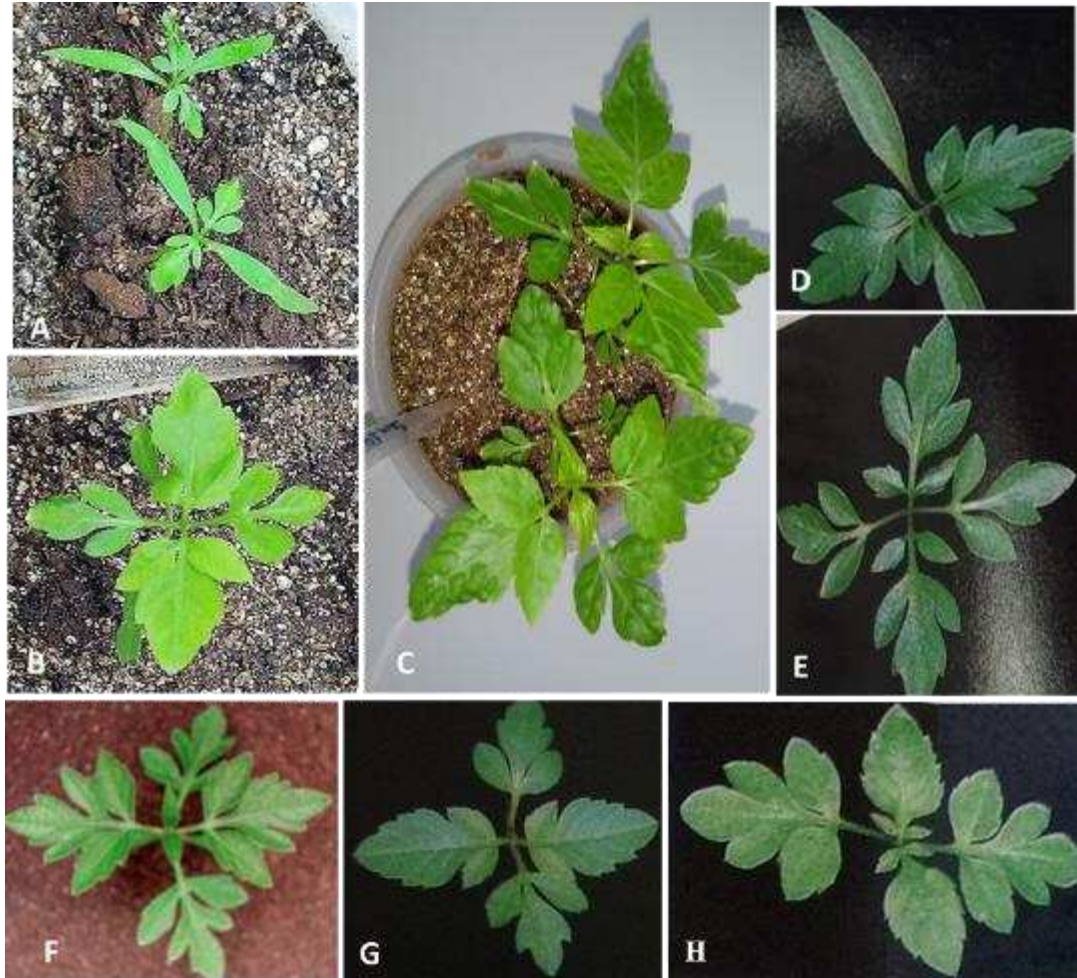
Contudo, *B. subalternans* var. *subalternans* apresenta o segundo par de folhas muito semelhante ao primeiro, enquanto, nas plantas obtidas neste trabalho, o segundo par difere do primeiro. Além disso, embora as folhas verdadeiras da espécie 326 e de *B. subalternans* var. *subalternans* sejam trilobadas, a forma dos lobos é distinta, pois a variedade de *B. subalternans* apresenta o lobo frontal com margens mais lobadas (Figuras 30A a 30E).

Assim, as plantas da espécie 326 se assemelham mais à *B. alba* e *B. pilosa* dado que estas duas espécies também mostram ausência de similaridade entre o primeiro e segundo par de folhas de uma mesma planta (Figura 30A a 30E e 30G a 30H). Porém, com relação ao formato dos lobos, *B. alba* é mais próxima da planta que obtivemos neste trabalho que *B. pilosa*. Esta última espécie curiosamente apresenta o segundo par de folhas análogo ao da espécie em estudo, porém o primeiro par é distinto.

Ou seja, as características das folhas verdadeiras da espécie 326 não condizem totalmente com nenhuma das espécies, nem mesmo com as de *B. alba* (Kissmann & Groth, 1999). Ressalta-se ainda que as plantas jovens da espécie 326 não puderam ser comparadas com *Bidens subalternans* var. *simulans* e *Bidens bipinnata* L. pois não foram localizadas descrições ou registros fotográficos dessas. O mesmo ocorreu com as outras oito espécies do gênero com registro de ocorrência em Minas Gerais.

Consequentemente, devido às duas questões destacadas no parágrafo anterior, utilizando-se a planta jovem, pode-se afirmar que a espécie 326 é do gênero *Bidens*, mas não é possível identificar de qual espécie.

Figura 30: Plantas jovens: A. Espécie nº 326 com folhas cotiledonares e o primeiro par de folhas; B. Espécie nº 326 com dois pares de folhas. C. Espécie 326 com quatro pares de folhas; D. *Bidens subalternans* DC. var. *subalternans*. com folhas cotiledonares e primeiro par de folhas. E. *B. subalternans* com dois pares de folhas. F. *B. subalternans* diversos pares de folhas. G. *Bidens alba* (L.) DC. com dois pares de folhas; H. *Bidens pilosa* L. com dois pares de folhas.



Fonte: A, B, C Fotografia da autora; D, E, G e H. (Kismann & Groth, 1999); F. Lorenzi, 2014).

3.3.4 Identificação botânica por especialista

A espécie nº 326 foi identificada por especialista como *Bidens subalternans* (L.) DC. da família Asteraceae e sua exsicata foi depositada no herbário PAMG, pertencente à Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG (Figura 31).

Figura 31: Exsicata da espécie 326 depositada em 20.11.2019 no Herbário PAMG, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG com registro 58786 e identificada como *Bidens subalternans* (L.) DC..



Fonte: Fotografia da autora.

3.4 Identificação da espécie nº 333

3.4.1 Planta a campo

Em se tratando da espécie nº 333, da família Poaceae, a identificação como *Digitaria insularis* (L.) Fedde, baseou-se essencialmente na presença de inflorescência,

densa, ramificada e terminal, constituídas por um conjunto numeroso de racemos de coloração branca-prateada quando imaturas e prateadas/ocráceas quando maduras (Figura 32A), contendo numerosas espiguetas, envolvidas por pelos sedosos e longos (Moreira & Bragança, 2011; Lorenzi, 2014).

As panículas são grandes, com até 30 cm de comprimento, sendo compressas em plantas jovens e voltadas sempre para um lado em plantas mais velhas (Figura 32B), e são compostas por 20-40 racemos com em média 13 cm de comprimento. Tais características confirmam a identificação da planta como *D. insularis*, pois coincidem com as características descritas para esta espécie (Kissmann & Groth, 1997; Cañas & Alonso, 2005). A espécie mais próxima desta, por ser da mesma seção e possuir número de racemos semelhante, que tem registro de ocorrência no estado de Minas Gerais é a *Digitaria laxa* (Rchb.) Parodi. Esta se diferencia de *D. insularis* por apresentar espiguetas com indumento mais curto, não viloso e de coloração palha (REFLORA, 2020).

Também estão de acordo com Moreira e Bragança (2011) e Lorenzi (2014) as características gerais da planta, que é herbácea, cespitosa, ereta (Figura 32C); com colmos cilíndricos, entrenós longos e coloração verde amarelada; bainha cobrindo grande parte do entrenó, lâminas foliares verdes e lineares e lanceoladas (Figura 32D), lígula curta e colar evidente.

No presente trabalho, no dia da coleta da espécie nº 333, cada touceira possuía de 10 a 20 panículas, em diversos estágios de maturidade. Apenas as espiguetas com aparência de madura (vilosidade com tonalidade mais escura com nuances ocre) foram coletadas e apresentaram em média 1.150 espiguetas/panícula, ou seja, uma média de 38,3 espiguetas por racemo. O peso de mil espiguetas da espécie nº 333 foi estimado em 0,594g.

Figura 32: Características das plantas da espécie n° 333: A. Panícula densa, muito ramificada com numerosas espiguetas pilosas; B. Panículas se voltam para baixo; C. Planta cespitosa e ereta; D. Detalhes dos colmos cilíndricos e folhas lineares lanceoladas.



Fonte: Fotografia da autora.

3.4.2 Unidade de dispersão

3.4.2.1 Por referências bibliográficas

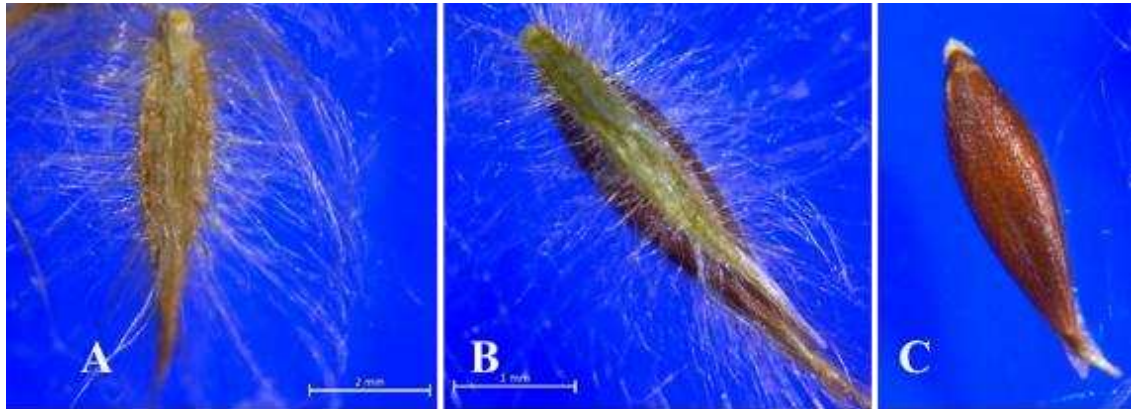
A unidade de dispersão da espécie nº 333 é uma espiguetas vilosa, lanceolada, estreito-ovalada medindo 3,5-4,5mm de comprimento por 0,9-1,0mm de largura e 0,6-0,8mm de espessura. Os pelos são longos, sedosos, brilhantes, esbranquiçados a levemente ocráceos/avermelhados, medindo de 2,0 a 4,5 mm. A gluma inferior é curta, completamente glabra, triangular, de textura membranácea e ápice obtuso.

A lema tem comprimento semelhante ao antécio ou maior, apresenta sete a cinco nervuras, glabra em no centro, pois não há pelos inseridos dos dois lados da nervura central, porém alternadamente vilosa entre as nervuras laterais e em suas margens (Figura 33A). A gluma superior é triangular-lanceolada, 3-5 enervada, membranácea, com pelos longos inseridos entre suas nervuras e em suas margens, mais curta que antécio superior, o qual é visível abaixo desta gluma (Figura 33B). O antécio é lanceolado, estriado, brilhante, glabro, sem nervuras e tem coloração castanha avermelhada/cobreada (Figura 33C).

Tais características são compatíveis com a descrição e desenhos da espécie *Digitaria insularis* (L.) Fedde) existente em Kissmann e Groth (1997) (Figura 34) e com a descrição de Cañas & Alonso, (2005). Como as espiguetas de *D. insularis* são muito típicas, podem ser facilmente reconhecidas e distinguidas da maioria das espécies do gênero *Digitaria*, à exceção de quatro espécies que pertencem à mesma seção botânica de *D. insularis*. (sect. *Trichachne*) existentes no Brasil, pois estas também são pilosas/vilosas, e possuem formato semelhantes (Kissmann & Groth, 1997; Rua, 2003; Sanchez-Ken 2012; Reflora,2020).

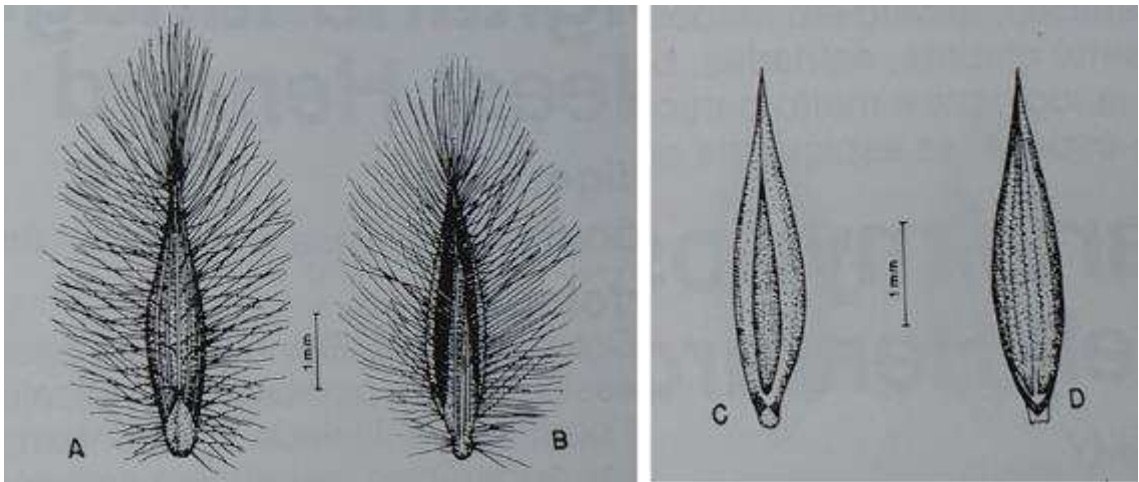
Dessas, pode-se afirmar que as espiguetas da espécie nº 333 são diferentes das espiguetas de *Digitaria swalleriana* Henrad e *Digitaria sellowii* (Mül. Hal.) Henrad que apresentam pelos somente na margem da lema inferior (Kissman & Groth, 1997; REFLORA, 2020). As espiguetas de *Digitaria tenuis* (Nees) Henrad são menores (2,7-3,0 mm) e possuem antécio fértil com uma nervura no centro. Também se distingue de *Digitaria laxa* (Rchb.) Parodi, que tem pilosidade mais escassa nas espiguetas, gluma superior com apenas uma nervura (Vega, Rugol De Agrasar, 2005), além das características citadas no item 4.4.1. *D. laxa* é a única que tem registro de ocorrência no Estado de Minas Gerais (REFLORA, 2020).

Figura 33: Espiguetas da espécie nº 333: A. Face dorsal mostrando gluma e lema inferior; B. Face ventral, mostrando gluma superior; C. Face ventral do antécio fértil.



Fonte: Fotografia da autora.

Figura 34: Espiguetas e antécios de *Digitaria insularis* (L.) Fedde). A. Vista dorsal com gluma inferior na base; B. Vista dorsal com gluma superior; C. Vista ventral do Antécio fértil; D. Vista dorsal do antécio fértil.



Fonte: (adaptado de Kissamnn & Groth 1997).

3.4.2.2 Comparação com amostras de coleções

As características gerais da unidade de dispersão da espécie nº 333 mostram que estas são da família Poaceae. Durante a inspeção das espécies desta família existentes em coleção do LASO (258 amostras), selecionou-se duas amostras, ambas identificadas como *Digitaria insularis* (L.) Fedde (= *Trichachne insularis* (L.) Nees), que apresentaram aparência geral muito semelhante à espiguetas da espécie em estudo: dimensões, forma lanceolata a estreito-ovalada com longos pelos sedosos, de esbranquiçados a ocráceos e antécio fértil marrom-avermelhado (Figura 35A).

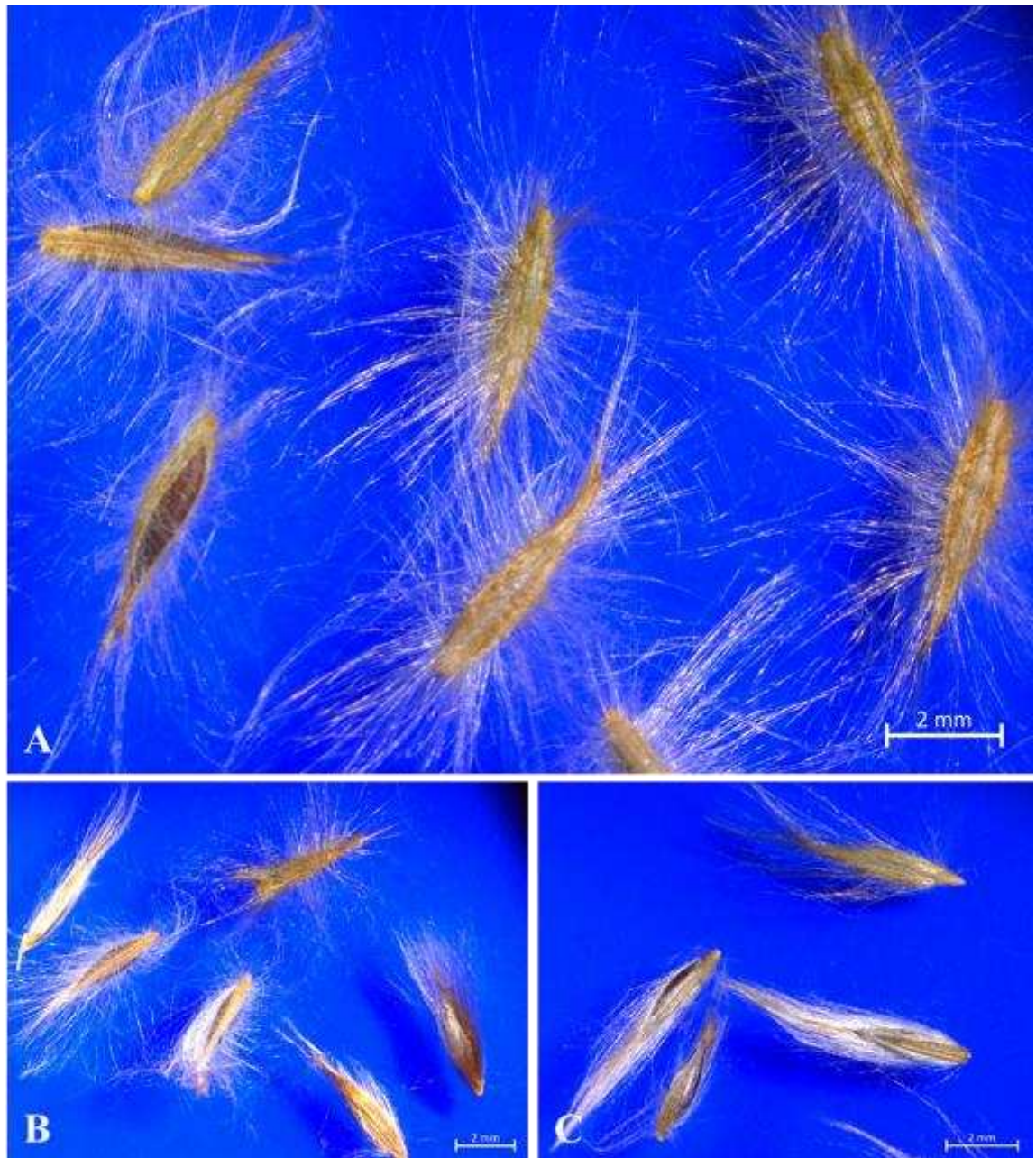
A observação em microscópio-estereoscópio mostrou que os detalhes das espiguetas da espécie nº 333, gluma inferior subtriangular, glabra, com comprimento pouco menor que 1 mm e textura membranácea, presença de pelos com até 4,5 mm de

comprimento nas margens e entre as nervuras da gluma superior e lema inferior, também coincidem com as características das espiguetas das amostras nº 46 (Figura 35B) e nº 776 (Figura 35C) da coleção do LASO-MG, as duas de *Digitaria insularis* (L.) Fedde.

A primeira amostra foi produzida na década de 1970 e doada ao LASO-MG por um pesquisador do Instituto Agronômico de Campinas (IAC - Bacchi, O.), especialista em sementes e um dos autores do livro *Plantas Infestantes de Culturas*, publicado em 1972. A outra amostra foi coletada por Pedroso, F.A., biólogo e técnico agrícola da empresa Agro Cosmos, que produz e comercializa sementes de plantas daninhas por coleta em áreas agrícolas e/ou campos de produção (Linkedin, 2020).

Nenhuma das duas amostras possuem identificação certificada, porém são originadas de fontes relativamente confiáveis, em especial a amostra nº 46, produzida por pesquisador de notório saber, porém não certificada porque na época de produção desta amostra, anterior à publicação da primeira versão da ISO 17025, não era ainda evidente a necessidade de certificação de materiais de referência utilizados em laboratório.

Figura 35: Espiguetas da Poaceae observadas em microscópio estereoscópio e amostras de *Digitaria insularis* (L.) Fedde da coleção do LASO-MG. A. espécie 333 coletadas esse trabalho; B. da amostra número. 46; C. da amostra número 776.



Fonte: Fotografia da autora.

3.4.2.3 Comparação entre resultados dos tipos de identificação de unidades de dispersão

As duas formas de identificação utilizadas resultaram na espécie *Digitaria insularis* (L.) Fedde. Enquanto por referências bibliográficas a espécie nº 333 foi comparada com as descrições das espiguetas de *D. insularis* e de mais quatro espécies da secção Trichachne com registro de ocorrência no Brasil, a comparação com amostras

da coleção só foi feita com espiguetas de *D. insularis*, pois nenhuma das coleções do LASO possui amostras de espiguetas de outras Digitarias dessa secção.

Se fosse possível confrontar as espiguetas em estudo com as espiguetas dessas quatro espécies, as quais também possuem longos pelos, a identificação por comparação poderia se tornar ainda mais segura. Isso é especialmente válido para *D. laxa*, que dessas quatro espécies, é a única que possui registro de ocorrência em Minas Gerais (REFLORA, 2020). Portanto, caso fossem consideradas as duas formas de identificação das unidades de dispersão em conjunto, a identificação seria mais fundamentada.

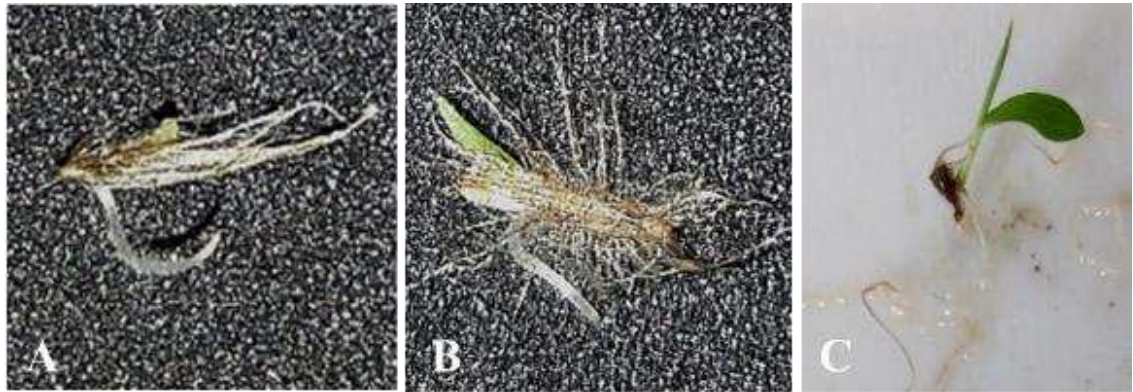
3.4.3 Planta jovem

Após a sementeira, a protrusão radicular das sementes da espécie nº 333 foi 49% a 25°C, iniciando-se no 6º dia e estabilizando aos 16 dias. Em contraste, na temperatura alternada de 20-30°C, a protrusão radicular foi 99%, iniciando-se no 2º dia após a sementeira, com um pico aos 4-6 dias e finalização aos 12 dias. De forma similar, a 20-35°C, a germinação foi 97%, com início no mesmo dia, porém o processo foi mais lento, com pico aos 7-9 dias e estabilização aos 16 dias.

Ao iniciar a germinação, a coleorriza rompe as estruturas de proteção da cariopse e imediatamente após, ocorre a protrusão da raiz primária, que é fina, branca, levemente hialina (Figura 36A) e o coleóptilo emerge (Figura 36B). Em seguida, ocorre o alongamento do coleóptilo com a primeira folha em seu interior, a qual mais tarde emerge através do ápice. Outra folha é emitida e assim sucessivamente. Raízes secundárias se desenvolvem enquanto as folhas, estão sendo emitidas, formando um sistema radicular fasciculado. Na temperatura de 20-30°C, no 11º dia, a maioria das plântulas já havia emitido a segunda folha (Figura 36C). De acordo com a classificação de Garwood (1996); Ibarra-Manríquez, Martínez e Oyama (2001), a germinação dessa espécie é criptocotiledonar hipógea de reserva.

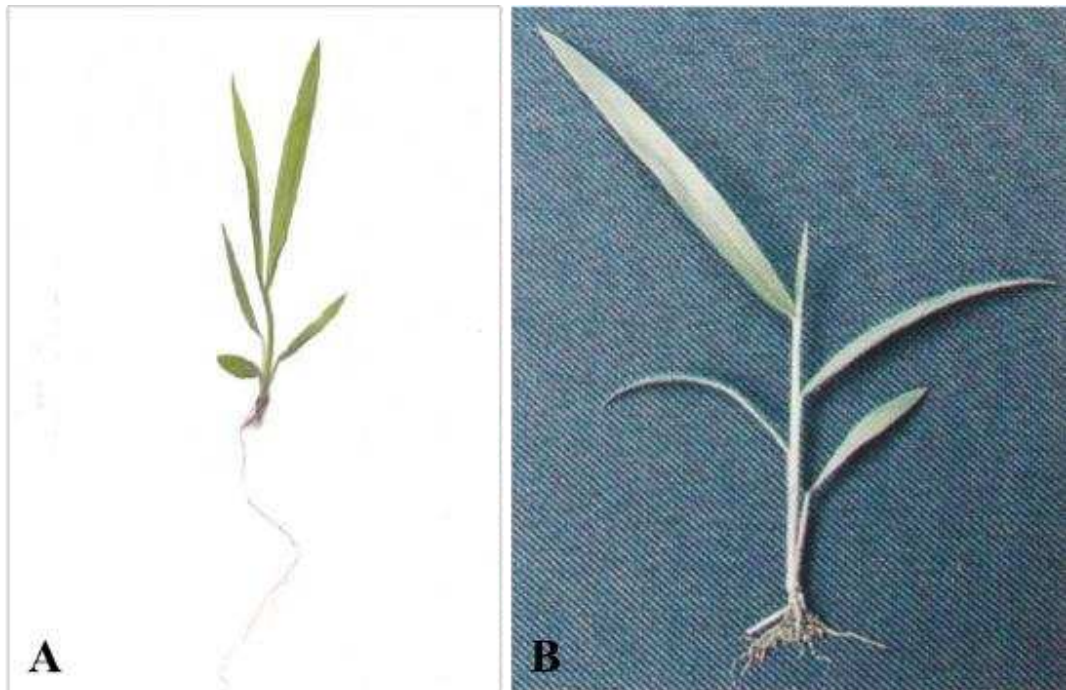
Plântulas originadas de sementes germinadas transferidas para recipientes com substratos orgânicos iniciaram a emissão do primeiro par de folhas aos 10-12 dias após a sementeira, possibilitando a confecção de exsiccatas de plantas com cinco folhas desenvolvidas aos 33 dias (Figura 37).

Figura 36: Plântulas da espécie 333. A. Protusão da raiz; B. Coleóptilo se expandindo; C. Primeira folha expandida e segunda folha emitida.



Fonte: Fotografia da autora.

Figura 37: A. Planta jovem com cinco folhas. A. Exsicata da espécie nº 333; B. *Digitaria insularis* (L.) Fedde



Fonte: A. Fotografia da autora; B. (Kissmann & Groth, 1997).

As exsicatas das plantas jovens da espécie nº 333 apresentam coleóptilo verde, ovalado, com ápice agudo, muito provavelmente glabro; folhas com bainhas esverdeadas e lâmina linear lanceolada. Tais características são semelhantes às características gerais das plantas jovens das espécies do gênero *Digitaria* descritas por Kissmann e Groth (1997).

A única espécie deste gênero, das descritas por esses autores, que possui coleóptilo glabro é a *Digitaria insularis* (L.) Fedde. Porém, como em exsicatas há certa dificuldade na observação da presença ou não de pilosidade, e porque esses autores não descreveram a outra espécie da secção *Trichachne*, que ocorre no estado de Minas

Gerais (*Digitaria laxa* (Rchb.) Parodi), pode-se afirmar apenas que a planta jovem da espécie nº 333 pode ser de *D. insularis*, porém, não há total certeza que se trata desta espécie.

3.4.4 Identificação botânica por especialista

A espécie nº 333 foi identificada por especialista como *Digitaria insularis* (L.) Fedde da família Poaceae e sua exsicata foi depositada no herbário PAMG, pertencente à Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG (Figura 38).

Figura 38: Exsicata da espécie 333 depositada em 20.11.2019 no Herbário PAMG, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG com registro 58787 e identificada como *Digitaria insularis* (L.) Fedde.



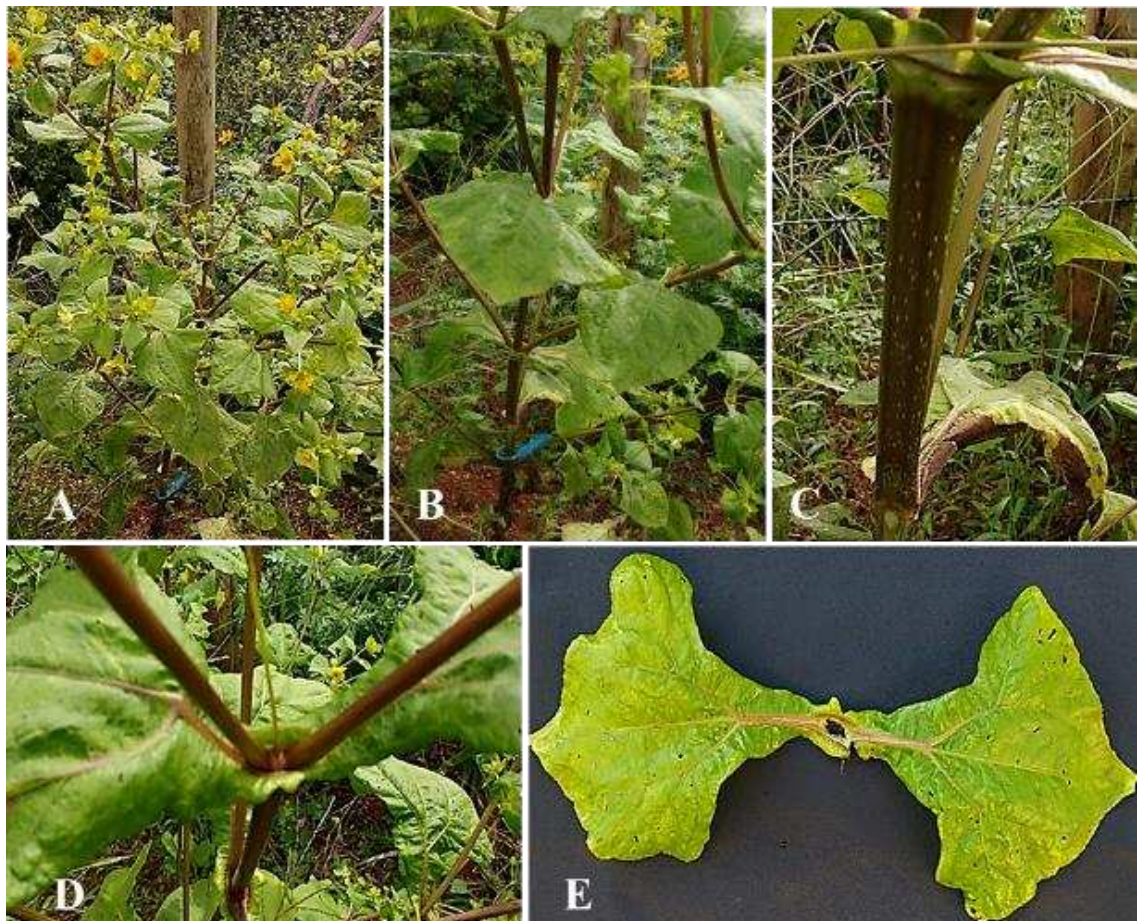
Fonte: Fotografia da autora.

3.5 Identificação da espécie nº 360

3.5.1 Planta a campo

A espécie nº 360 foi identificada no campo como *Melampodium perfoliatum* (CAV) H.B.L., porque apresenta as seguintes características descritas por Moreira e Bragança (2011) e Lorenzi (2014): caule ereto, áspero, de coloração púrpura-amarronzada, cilíndrico na base e anguloso nas extremidades, ramos dispostos em dicotomia ascendente com coloração semelhante à do caule; folhas opostas, simples, cruzadas, maioria de formato semelhante ao losango, três nervuras principais e pecíolo alado envolvendo o caule (Figura 39A, 39B, 39C, 39D e 39E).

Figura 39: Espécie 360. A. Aparência da planta; B. Detalhes da dicotomia e cor de caule e ramos; C. Detalhe das variações do caule (cilíndrico/anguloso) e inserção das folhas opostas; D. Pecíolo alado das folhas; E. Folhas romboidais.



Fonte: Fotografia da autora.

Também devido às inúmeras inflorescências, que são isoladas, do tipo capítulo contendo cinco brácteas foliáceas verdes, flores e corolas amarelas; e frutos do tipo

aquênio, dispostos radialmente neste capítulo (Figura 40A, 40B e 40C). Neste estudo, em um período de 35 dias, uma única planta produziu 180 capítulos, cada um contendo em média nove frutos.

Figura 40: Planta da espécie nº 360. A. Diversos capítulos com cinco brácteas verdes e flores amarelas, amarelas; B. Detalhes da inflorescência; C. Aquênios dispostos radialmente e protegidos pelas cinco brácteas verdes.



Fonte: Fotografia da autora.

3.5.2 Unidade de dispersão

3.5.2.1 Por referências bibliográficas

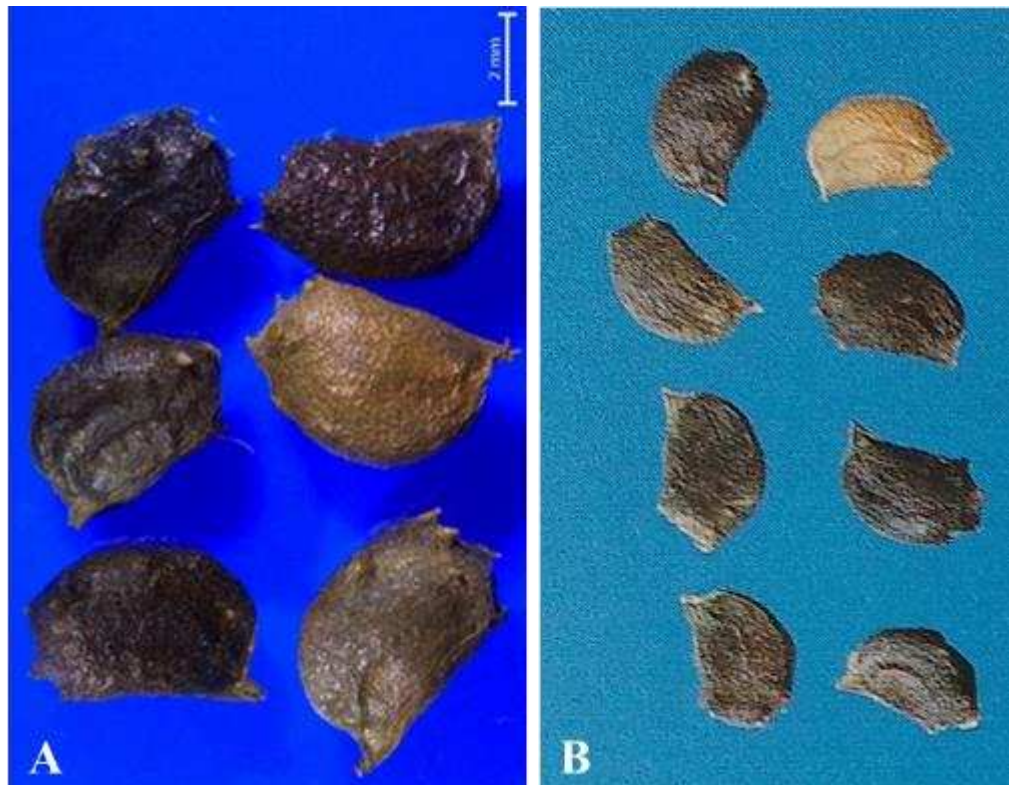
As unidades de dispersão da espécie 360 (“sementes”) são frutos do tipo aquênio que contém apenas uma semente verdadeira em seu interior. Esses frutos possuem formato aproximadamente ovoide de seção quadrangular ou cuneiforme arqueado, com uma margem convexa e outra quase reta medindo 4,0-6,0mm de comprimento por 2,1-3,5 mm de largura.

O pericarpo tem superfície lateral dura ao toque, brilhante, glabra, irregular, de coloração variando de marrom-claro-dourada a marrom escura, quase preta. O aquênio possui a base afilada e o ápice mais largo, onde ocorrem de quatro a cinco estruturas semelhantes a espinhos com tonalidade mais clara que o restante do fruto (Figura 41A).

Essas características correspondem à descrição e fotografias de Kissmann e Groth, (1999) e CONABIO (2020) para os aquênios de *Melampodium perfoliatum* (CAV) H.B.L. (Figura 41B) e diferem de *Melampodium divaricatum* (Rich) DC. que têm formato distinto e são menores (2,6-2,7mm de comprimento por 1,2-1,3 mm de largura) (Kissmann & Groth, 1999; CONABIO, 2020).

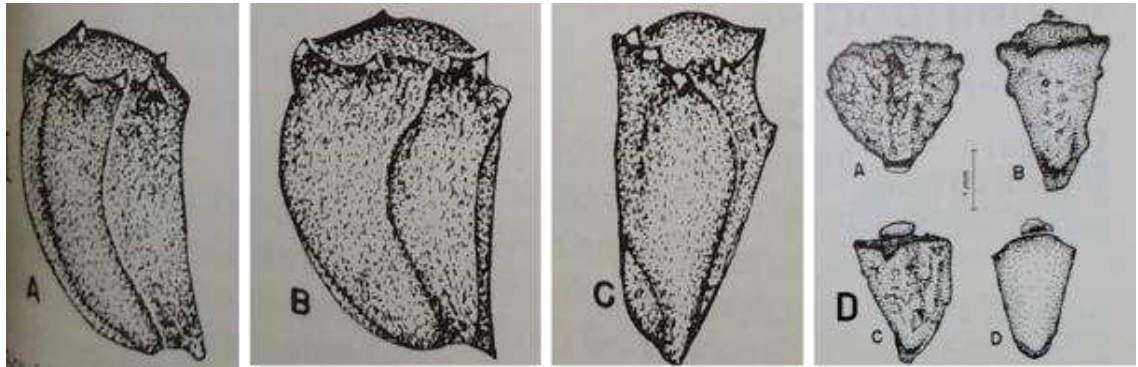
Os aquênios de *Melampodium paniculatum* Gardner além de menores, têm cor e formato muito diversos (Lorenzi, 2014). As ilustrações das sementes de *M. perfoliatum* (Figuras 42A, 42B e 42C) e de *M. divaricatum* (Figura 42D) confirmam os aquênios da espécie no 360 e podem ser identificados como *Melampodium perfoliatum* (CAV) H.B.L..

Figura 41: A. Aquênios da espécie 360 com variação de cor e formato; B. Aquênios de *Melampodium perfoliatum* (CAV) H.B.L.



Fonte: A. Fotografia da autora; B. (adaptado de Kissmann & Groth, 1999).

Figura 42: Aquênios de *Melampodium perfoliatum* (CAV) H.B.L.. A Vista dorsal, B. Vista lateral, C. Vista ventral. D. Diversos tipos de aquênio de *Melampodium divaricatum* DC.



Fonte: (adaptado de Kissmann & Groth, 1999).

3.5.2.2 Comparação com amostras de coleções

Não foi possível realizar a identificação dos aquênios da espécie 360 por comparação, pois em nenhuma das coleções do LASO-MG existem exemplares semelhantes aos aquênios desta espécie.

3.5.2.3 Comparação entre resultados dos tipos de identificação de unidades de dispersão

A comparação com amostras de coleções não foi possível para a espécie 360 porque não existiam amostras na coleção do LASO-MG com características semelhantes. Particularmente para essa espécie, essa identificação por comparação não se fez muito necessária em razão de ter sido obtida por revisão bibliográfica descrições e fotografias de três espécies de *Melampodium*, inclusive uma delas com as mesmas características da espécie em estudo.

Também porque se trata de um aquênio com características bem marcantes, que pôde ser diferenciado facilmente dos outros aquênios de espécies do mesmo gênero com ocorrência registrada no Brasil. Além do mais, todas as características do aquênio da espécie 360, até mesmo as dimensões, são coerentes com as informações disponíveis nas literaturas consultadas, inclusive as disponíveis em um site do México, de onde ela é nativa (CONABIO, 2020).

Por outro lado, quando for necessário identificar unidades de dispersão por comparação com amostras de coleção, seja por causa de um protocolo de identificação previamente estabelecido ou porque as características obtidas na literatura não foram

suficientes para identificar a unidade de dispersão, há a alternativa de utilizar sementes de coleções de outros laboratórios existentes no Brasil, dando-se preferência para amostras certificadas.

3.5.3 Planta jovem

Primeira sementeira

Após a primeira sementeira, realizada em julho de 2019, a germinação (protrusão radicular) dos aquênios da espécie 360 foi apenas de 2% na temperatura de 25°C e 5% a 20-30°C. Embora tenha ocorrido alta incidência de fungos no pericarpo das sementes que não germinaram, a aparência interna da maioria dos aquênios mostrava-se intacta, sugerindo que as sementes estavam viáveis, mas não germinaram devido a algum mecanismo de dormência.

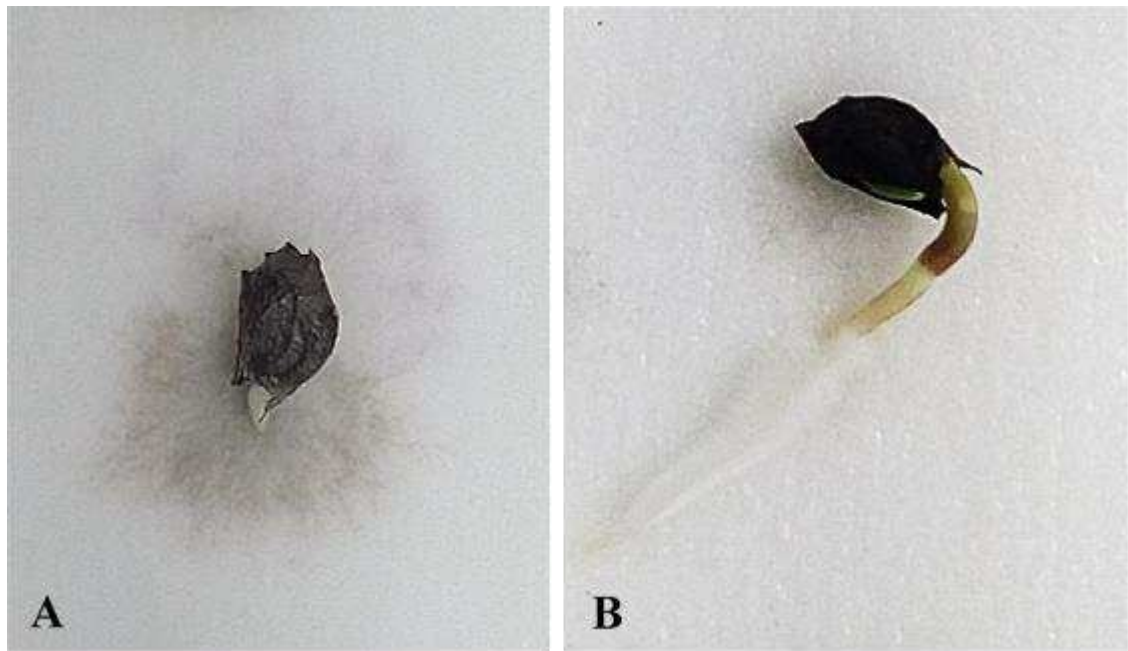
Além disso, as plântulas das poucas sementes que germinaram desenvolveram muito lentamente e algumas apresentaram folha cotiledonar infeccionadas ou com clorose, devido contaminação com fungos presentes no pericarpo. Mesmo assim, foi possível obter duas exsicatas, uma com dois pares de folhas verdadeiras e outra com apenas um par de folhas.

Outras sementeiras

Por outro lado, na segunda sementeira, realizada quatro meses após a primeira, a protrusão radicular das sementes da espécie nº 360 foi 22% a 25°C com luz constante e apenas 3% na ausência de luz. Na temperatura alternada de 20-30°C, a protrusão radicular máxima foi 12% quando os aquênios foram escarificados com um pequeno corte no pericarpo, pois este corte ocasionou proliferação de fungos e apodrecimento das sementes. Em aquênios não escarificados a protrusão radicular foi de 44%. Nessa condição, a germinação iniciou-se no segundo dia após a sementeira, estabilizando-se no 13º dia. Em terceira sementeira, realizada seis meses após a primeira, a germinação a 20-30°C foi próxima da segunda sementeira (50% de protrusão radicular). Tanto na segunda como na terceira sementeiras, ocorreram muitos aquênios com fungos desenvolvendo-se na superfície dos pericarpos, especialmente em sementes escarificadas.

Os eventos germinativos são descritos como: primeiramente ocorre a protusão da raiz que é branca, pilosa e pivotante. Em seguida o hipocótilo branco esverdeado com coloração ligeiramente púrpura e verde nas proximidades dos cotilédones, emerge e se expande, depois as folhas cotiledonares desprendem-se do tegumento e adquirem uma forma definitiva (Figura 43A e 43B). De acordo com a classificação de Garwood (1996); Ibarra-Manríquez, Martínez e Oyama (2001), a germinação dessa espécie é fanerocotiledonar epígea fotossintetizante.

Figura 43: Plântulas da espécie nº 360. A. Protusão radicular. B. Raízes brancas, pilosas e pivotantes e hipocótilo branco esverdeado avermelhado se desenvolvendo.



Fonte: Fotografia da autora.

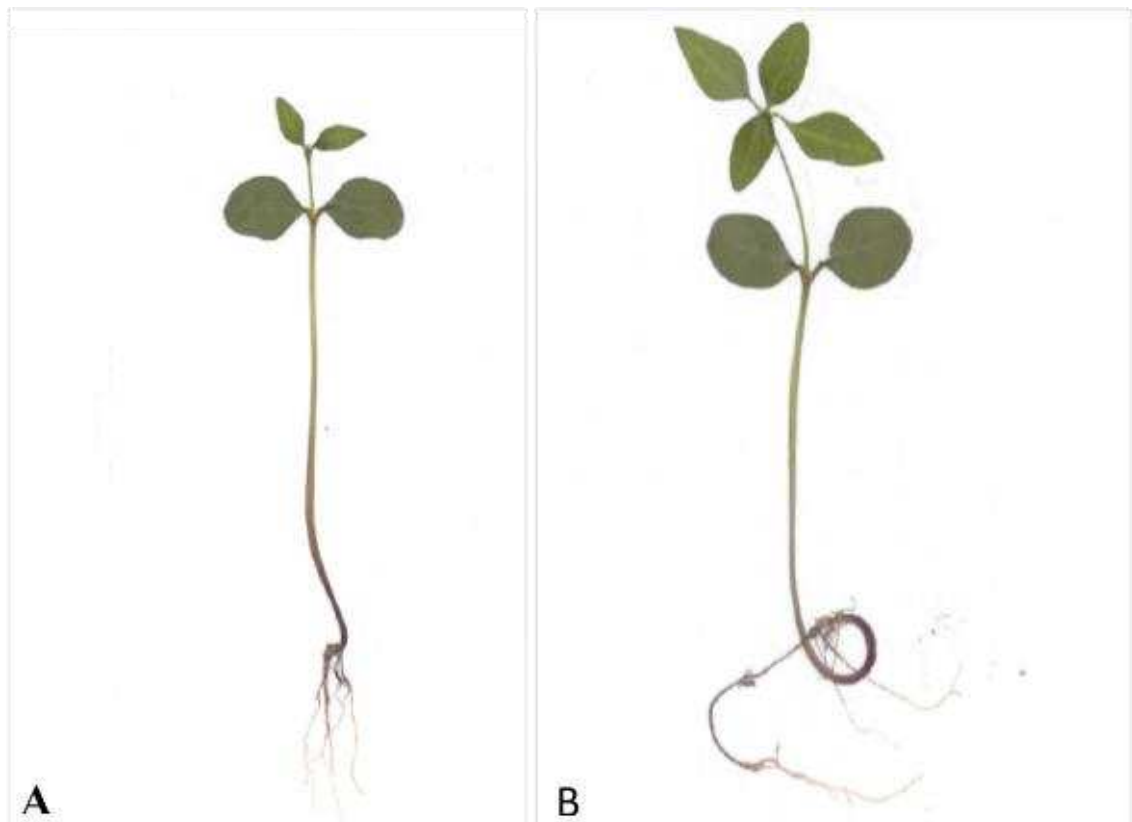
Plântulas originadas de sementes germinadas transferidas para recipientes com substratos orgânicos iniciaram a emissão do primeiro par de folhas aos 12-14 dias após a semeadura, possibilitando a confecção de exsicatas de plantas com primeiro par de folhas desenvolvido aos 15-20 dias e o segundo par de folhas aos 23-30 dias (Figura 44A e 44B).

As plantas jovens da espécie nº 360 apresentam folhas cotiledonares sésseis, de formato ovalado, com ápice arredondado, nervura mediana proeminente, superfície lisas e glabras (Figuras 44A, 44B e 45A). O primeiro par de folhas verdadeiras é peciolado, com folhas opostas em pares cruzados, com formato subtriangular, limbo, irregular, de coloração verde, com três nervuras principais, sendo a do centro mais evidente (Figura 44A, 44B e 45A). As folhas seguintes não são tão marcadamente triangulares (Figura

44B). Observando-se diretamente as plantas, pode-se verificar que suas folhas verdadeiras são pilosas (Figura 45B), porém esta característica não pode ser vista nas exsicatas (Figura 44A e 44B).

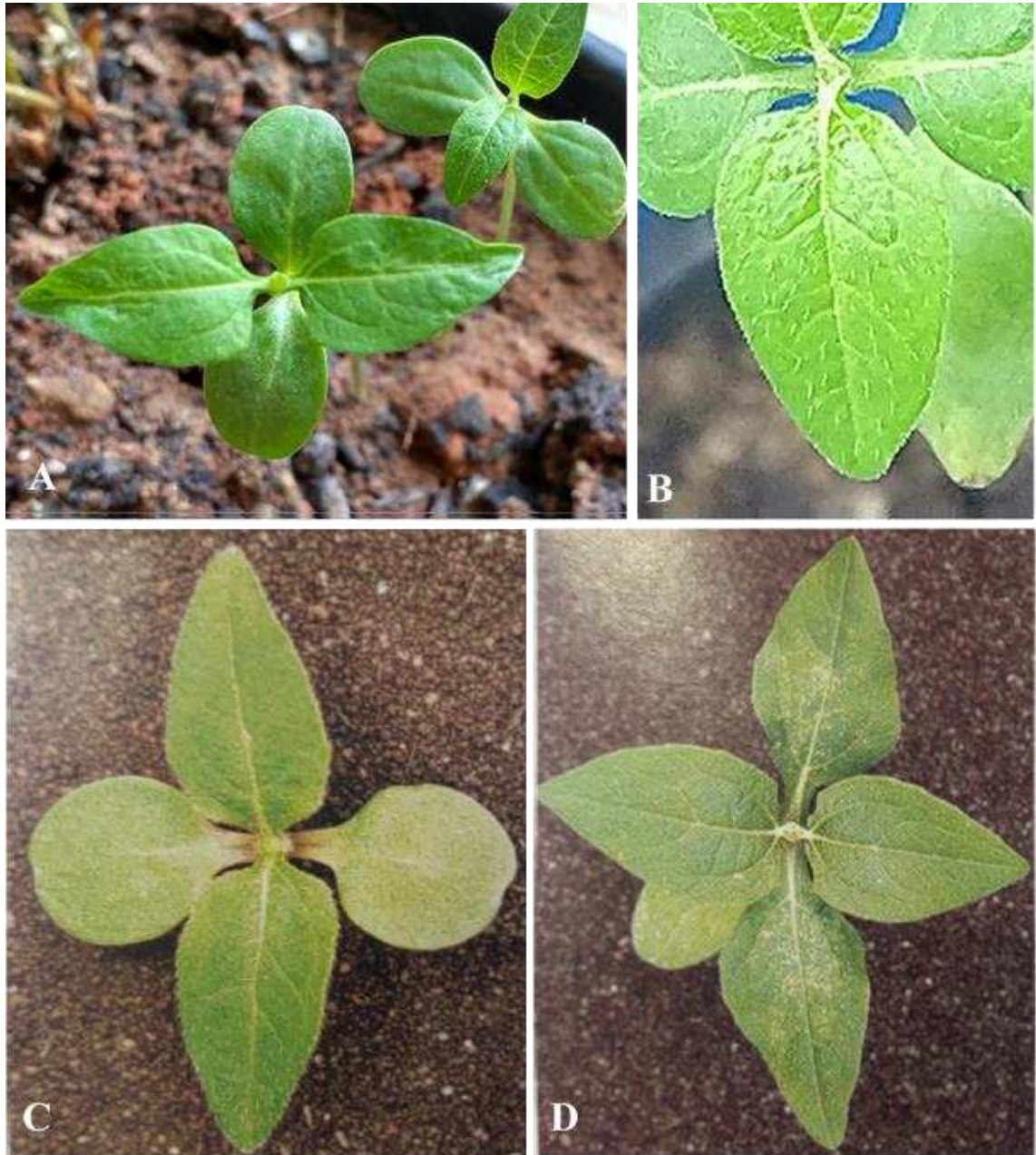
A planta jovem em estudo se diferencia da espécie *Melampodium paniculatum* Gardner, que possui o formato da folha cotiledonar quase circular, com ápice retuso e com apenas a nervura central proeminente (Figura 45C). O formato da folha verdadeira também é diferente (Figura 45C), porque é mais lanceolada e menos triangular que na espécie 360. Por outro lado, se assemelha a *Melampodium perfoliatum* (Cav.) H.B.K., cujas características descritas na literatura (Kissmann & Groth, 1999) ou demonstradas em fotografia de Lorenzi (2014) (Figura 45D) concordam com aquelas que foram observadas experimentalmente. Não foi realizada a comparação com a planta jovem de *Melampodium divaricatum* (Rich. ex Pers.) DC., outra espécie do gênero com registro de ocorrência no estado de Minas Gerais (REFLORA, 2020), porque não foram localizadas na literatura a descrição ou fotos de plantas jovens desta espécie.

Figura 44: Exsicata da planta jovem da espécie nº 360. A. Planta com folhas cotiledonares e primeiro par de folhas; B. Planta com folhas cotiledonares, primeiro e segundo pares de folhas.



Fonte: Fotografia da autora.

Figura 45: Plantas jovens do gênero *Melampodium*: A. Espécie 360 com folhas cotiledonares e o primeiro par de folhas; B. Folha do segundo par de folhas da espécie 360 evidenciando a pilosidade no limbo foliar; C. *Melampodium paniculatum* Gardner com folhas cotiledonares e primeiro par de folhas. D. *Melampodium perfoliatum* (Cav.) H.B.K. com dois pares de folhas verdadeiras



Fonte: A, B. Fotografia da autora C e D: Lorenzi, 2014).

3.5.4 Identificação botânica por especialista

A espécie foi identificada por especialista como *Melampodium perfoliatum* (Cav.) Kunth., da família Asteraceae, e sua exsicata foi depositada no herbário PAMG, pertencente à Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG (Figura 46.)

Figura 46: Exsicata da espécie 360 com flores e frutos depositada em 20.11.2019 no Herbário PAMG, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG com registro 58788 e identificada como *Melampodium perfoliatum* (Cav.) Kunth.



Fonte: Fotografia da autora.

3.6 Identificação da espécie n° 384

3.6.1 Planta a campo

As características que permitiram a identificação da espécie 384 como *Cyperus rotundus* L. no campo foram a presença de inflorescências com espiguetas com coloração castanho-avermelhado com anteras amarelas bem visíveis (Figura 47A e 47B); caules do tipo bulbo e rizoma longo, com engrossamentos arredondados/irregulares (pseudotubérculos) em determinadas partes da sua extensão, características compatíveis com as referências consultadas (Lorenzi, 2014; Kissmann & Groth, 1997; Moreira & Bragança, 2011).

Figura 47: Plantas da espécie 384 obtidas no trabalho. A. Planta com inflorescência; B. Detalhes da inflorescência; C. Inflorescência com anteras visíveis.



Fonte: Fotografia da autora.

3.6.2 Unidade de dispersão

3.6.2.1 Por referências bibliográficas

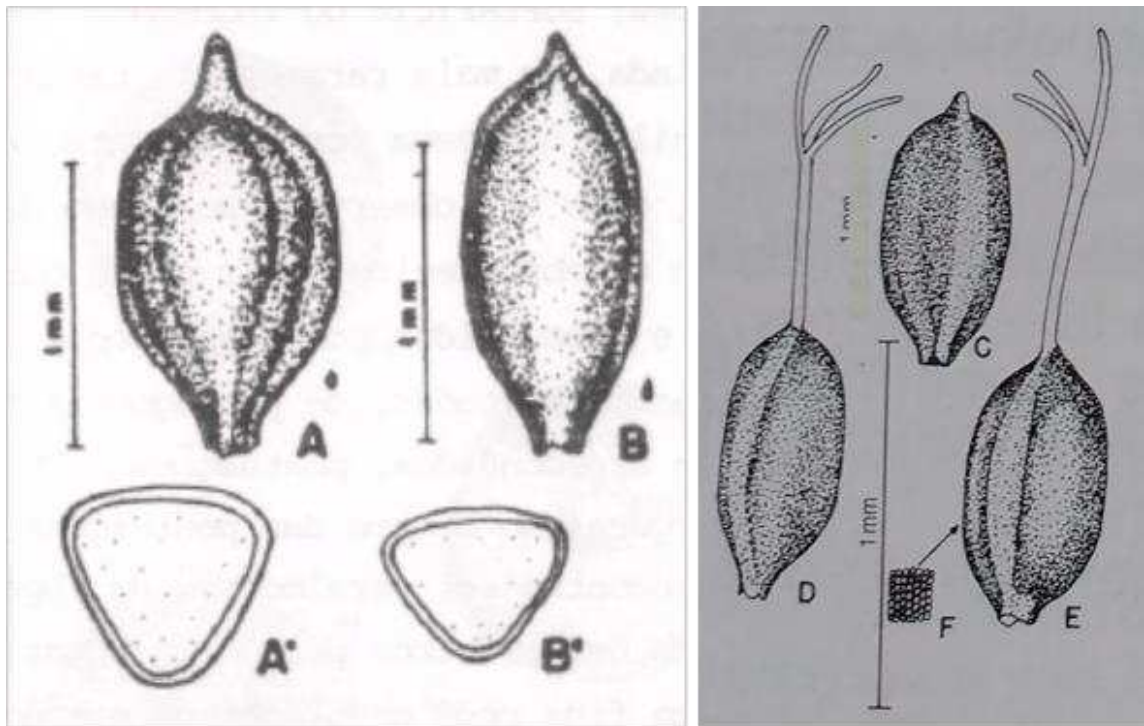
A espécie nº 384 apresenta unidades de dispersão do tipo núcula, com formato oblongo-trígono a elipsoide-trígono, sendo duas faces iguais e a terceira mais larga. Possuem superfície lisa, glabra, com coloração castanha-clara a castanho-escuro, dependendo da maturidade, revestida por uma fina película ceróide, de tonalidade mais clara, que dá ao fruto um aspecto reticulado (Figura 48A).

As núculas são mais compridas que largas, medindo 1,2-1,5mm de comprimento por 0,6-0,9mm de largura e 0,2-0,5mm de espessura. O ápice das núculas é arredondado e apiculado, apresentando muitas vezes estilete ou parte dele persistente (Figura 48A e 48B).

As características das núculas coletadas são muito semelhantes às de *Cyperus esculentus* L. (Figura 48AA') e também às da espécie *Cyperus rotundus* L. (Figura 48BB; 49C, 48D e 48E), descritas por Kissman e Groth, (1997), Groth e Liberal (1988). Porém se assemelha mais à essa última espécie, pois as núculas de *C. esculentus* têm formato mais obovoide que elíptico e um ápice que afila mais abruptamente (Figura 48AA). Entretanto, a diferença de formato entre estas espécies é sutil, o que torna a distinção entre as unidades de dispersão destas duas espécies muito difícil, a não ser pela presença de fragmentos de espiguetas. Estas são de coloração amarela ou castanha amareladas em *C. esculentus* e castanho avermelhada em *C. rotundus*, como na amostra em estudo (Figura 48A). Dessa forma é possível inferir que as núculas são dessa última espécie (Kissman & Groth, 1997).

Ressalta-se, entretanto, que a identificação não é totalmente confiável porque a identificação baseou-se apenas nas descrições de 22 das 60 espécies do gênero *Cyperus* com registro de ocorrência em Minas Gerais, pois não foram localizadas na literatura descrições das núculas das outras 38 espécies (Kissman & Groth, 1997; Groth & Liberal, 1998; REFLORA, 2020).

Figura 48: AA'. Núculas da de *Cyperus esculentus* L. ;BB'.Núculas de *Cyperus rotundus* L. C. Núcula de *Cyperus rotundus* L.; D. e E. Núculas de *C. rotundus* com e estilete persistente no ápice; F. Superfície reticulada da núcula



Fonte: (adaptado de Kissmann & Groth, 1997).

3.6.2.2 Comparação com amostras de coleções

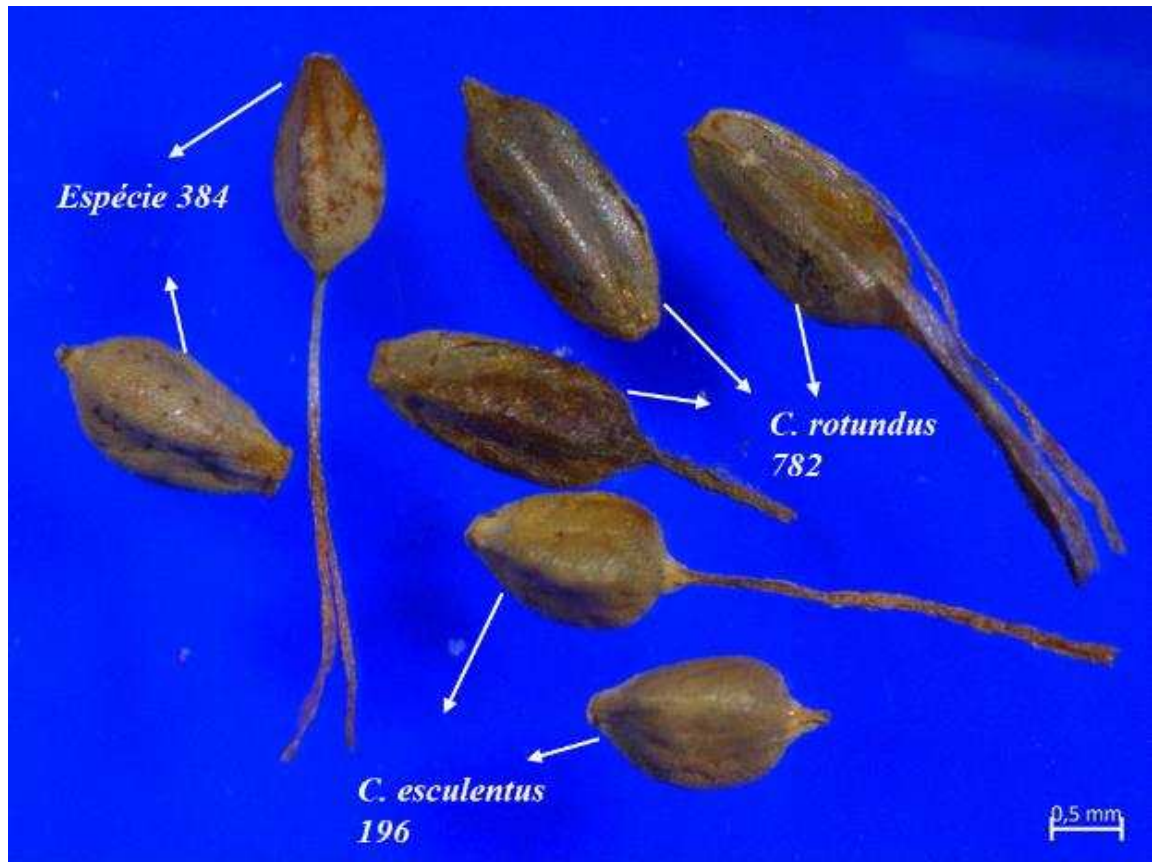
As características gerais da unidade de dispersão da espécie nº 384 sugeriram que se trata de uma espécie da família Cyperaceae. Durante a inspeção das 22 espécies desta família existentes em coleções do LASO-MG, selecionou-se duas amostras, a amostra nº 196, de *Cyperus esculentus* L. e amostra no 782, de *Cyperus rotundus* L. que apresentavam núculas com tamanho e cor semelhantes à espécie em estudo.

A observação em microscópio-estereoscópio evidenciou que a semelhança das duas amostras da coleção do LASO-MG com a espécie nº 384, porém nenhuma das duas amostras é exatamente igual a esta. Na verdade, o formato e tamanho das núculas da espécie nº 384 é intermediário, entre *C. esculentus* e *C. rotundus*. O mesmo ocorre com a textura e reticulado da película que recobre o pericarpo (Figura 49).

De outra forma, como os fragmentos de espiguetas presentes na amostra da espécie nº 384 são similares em textura e na coloração avermelhada aos da amostra nº 782, (Figura 50A e 50B), pode-se presumir que as núculas da espécie em estudo são de *Cyperus rotundus* L. como essa amostra. Entretanto, embora sejam de fontes confiáveis, pois a amostra 196 é originada da coleção produzida por Bacchi, O. e a amostra 782 foi

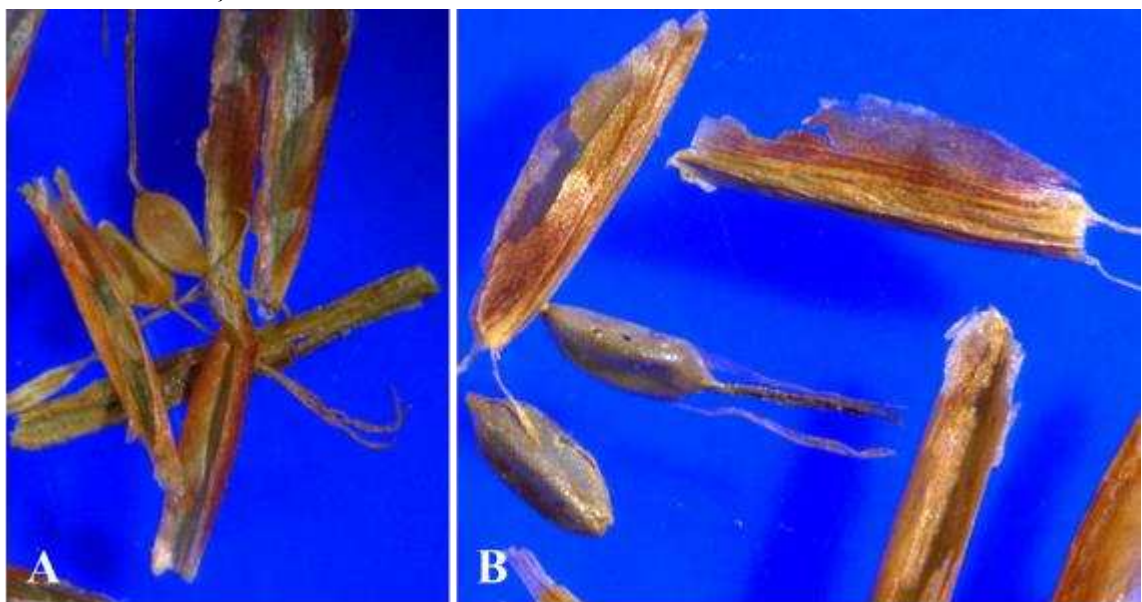
adquirida de Pedroso, F.A. Contudo, nenhuma das duas amostras do LASO-MG utilizadas nessa identificação são certificadas.

Figura 49: Núculas de *Cyperaceas* observadas em microscópio estereoscópio: espécie n° 384, amostras da coleção do LASO-MG, n° 196 de *Cyperus esculentus* L. e n° 782 de *Cyperus rotundus* L.



Fonte: Fotografia da autora.

Figura 50: Núculas e fragmentos de espiguetas. A. Espécie n° 384; B. Amostra n° 782 de *Cyperus rotundus* L. das coleções do LASO-MG.



Fonte: Fotografia da autora.

3.6.2.3 Comparação entre resultados dos tipos de identificação de unidades de dispersão

Utilizando-se as duas formas de identificação das sementes, inferiu-se, pelas características dos fragmentos das espiguetas presentes na amostra da espécie nº 384, que a espécie é *Cyperus rotundus* L.. A identificação apenas das núculas não foi possível porque as características da espécie 384 são intermediárias entre *C. esculentus* e *C. rotundus*.

Enquanto a identificação por referências bibliográficas foi realizada pelo exame de 29 espécies descritas por Kissmann e Groth (1997), 22 destas com registro de ocorrência no estado de Minas Gerais, a comparação baseou em 32 amostras do gênero *Cyperus*, as quais pertenciam a 15 espécies, a maioria coincidente com as espécies cujas descrições estão na literatura citada acima. Um exemplo de espécie que existe na coleção do LASO-MG que não foi examinada na identificação por referências bibliográficas é *Cyperus pohlii* (Nees) Steud., que foi excluída porque tem comprimento bem maior que a espécie em estudo. Ou seja, de uma maneira ou de outra, as duas formas de identificação produziram resultados que se confirmaram ou foram complementares, tornando a identificação por semente mais segura.

Com relação à discriminação entre núculas de *C. esculentus* e *C. rotundus* foi demonstrado que as características macromorfológicas dos frutos (comprimento, largura, formato, formato da base e cor do fruto não são capazes de discriminar estas duas espécies. Essa distinção só pode feita utilizando-se características observadas em microscópio eletrônico (Hefler & Longhi-Wagner, 2008).

No caso das núculas da espécie 384, há uma dificuldade adicional, devido à presença de núculas imaturas, pois Hefler e Longhi-Wagner (2008) observaram que há uma variação morfológica muito grande nos frutos em diferentes estágios de desenvolvimento, especialmente na cor, tamanho e forma, sendo indicado que nas comparações sejam utilizados apenas frutos maduros.

3.6.3 Planta jovem

Após a semeadura, a protrusão radicular das sementes da espécie nº 384 foi de 11% a 25°C e 17% na temperatura alternada de 20-30°C. Em ambas as temperaturas, o processo de germinação ocorreu muito lentamente, iniciando com a germinação de uma

núcula aos 25 dias após a sementeira e ocorrendo lenta e espaçadamente até a estabilização aos 60 dias. Independente da temperatura, as sementes que germinaram foram aquelas maiores e com pericarpo mais escuro, sugerindo a não germinação pode estar relacionada a falta de maturidade das sementes.

Das plântulas germinadas, apenas quatro sobreviveram e formaram plântulas com as estruturas essenciais (raiz primária, coleóptilo e folha primária) intactas, e mesmos estas se mostraram muito pequenas e delicadas, desenvolvendo-se muito lentamente.

A germinação se inicia com a protrusão da raiz primária que é fina, branca, levemente hialina e a emergência do coleóptilo. Em seguida, ocorre o alongamento do coleóptilo com a primeira folha em seu interior, a qual mais tarde emerge através do ápice (Figura 51A). Outra folha é emitida e assim sucessivamente (Figura 51B). Raízes secundárias se desenvolvem enquanto as folhas estão sendo emitidas, sendo o sistema radicular fasciculado. De acordo com a classificação de Garwood (1996); Ibarra-Manríquez, Martínez e Oyama (2001), a germinação dessa espécie é criptocotiledonar hipógea de reserva.

Figura 51: Plântulas da espécie 384. A. Com estruturas essenciais desenvolvidas. B. Emitindo a segunda folha.

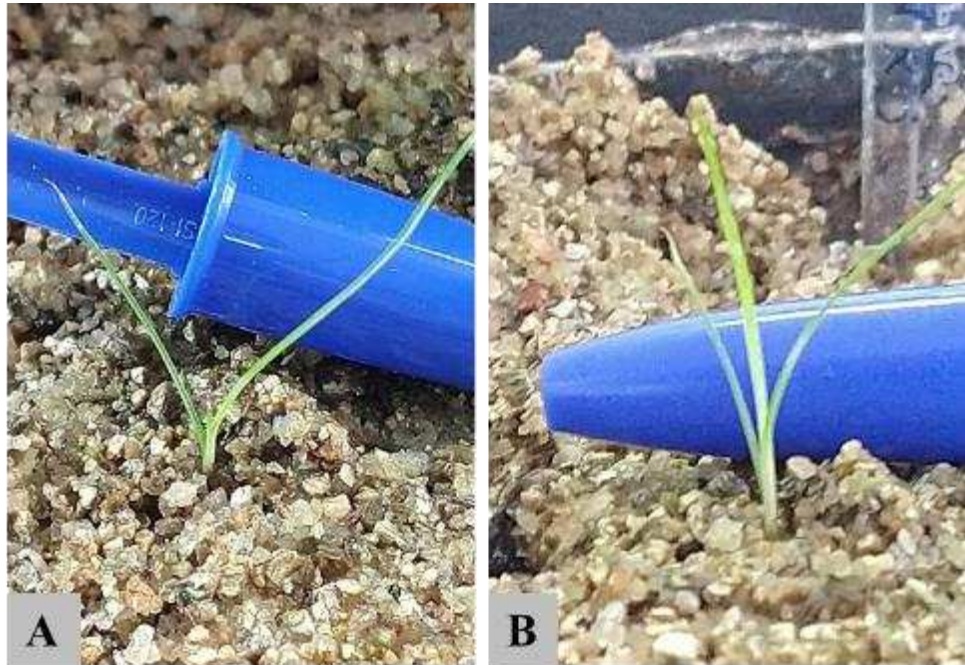


Fonte: Fotografia da autora.

Plântulas originadas de núculas “sementes” germinadas transferidas para recipientes com substratos orgânicos iniciaram a emissão da primeira folha definitiva

aos 20 dias após a semeadura (Figura 52A e 5B), possibilitando a confecção de exsiccatas de plantas com a sexta e sétima folha desenvolvida aos 60 dias (Figura 52A)

Figura 52: Plantas jovens da espécie nº 384. A. Iniciando a emissão da terceira folha; B. Com a terceira folha já desenvolvida.



Fonte: Fotografia da autora.

As plantas jovens da espécie nº 384 apresenta folhas finas, lanceoladas, verdes, glabras, brilhantes. Possuem ápice agudo, nervura central bem evidente na face, apresentam também seção transversal triangular e disposição em roseta (Figura 53 A e 53B). As folhas emitidas logo após a germinação e as outras folhas possuem as mesmas características morfológicas. Foi observado também a presença de rizoma no sistema radicular com formação de um tubérculo, do qual sai um novo rizoma (Figura 53A e 53B). A tuberização iniciou-se precocemente, quando as plântulas estavam emitindo a 6/7º folha e consistiu na característica chave para identificação da espécie como *Cyperus rotundus* L. por meio de observação da planta jovem (Kissman & Groth, 1997)

Figura 53: A. Exsicatas das plantas jovens da espécie n° 384 com a sexta e sétimas folhas desenvolvidas; B. Detalhe do sistema radicular mostrando um tubérculo se desenvolvendo.



Fonte: Fotografia da autora.

3.6.3 Identificação por botânico

A espécie foi identificada por especialista como *Cyperus rotundus* L., da família *Cyperaceae* e sua exsicata foi depositada no herbário PAMG, pertencente à Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG (Figura 54).

Figura 54: Exsicata da espécie 384 com inflorescência marrom-avermelhada depositada em 20.11.2019 no Herbário PAMG, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG com registro 58789 e identificada como *Cyperus rotundus* L..



Fonte: Fotografia da autora.

3.7 Identificação da espécie nº 390

3.7.1 Planta a campo

A identificação da espécie 390 como *Distimake aegyptius* (Lam.) A.R. Simões & Staples, baseou-se das características descritas por Moreira e Bragança (2011). Foram determinantes a presença de intenso indumento com pelos rígidos em toda extensão da

planta; o caule trepador volúvel, muito ramificado, cilíndrico, verde com pigmentação púrpura- avermelhada (Figura 55).

As folhas têm limbo recortado em cinco segmentos profundos e desiguais entre si, inflorescência em dicásio, flores de coloração branca (Figura 56A e 56B). Os frutos são do tipo cápsula orbicular, achatada na base e levemente estreitado no ápice, rodeados por cinco sépalas, sendo três externas pilosas e duas internas glabras, cada fruto tem quatro sementes em seu interior (Figura 57A e 57B). Tais frutos são muito semelhantes aos frutos de *D. aegyptius* descritos por Kissman e Groth (1999) (Figura 57C).

Trata-se de uma planta trepadeira, de crescimento rápido e que produz muitos cachos dicásios com 10-12 frutos em cada um deles, ou seja, 40-48 sementes por cacho. Assim, é possível colher em uma única planta uma quantidade considerável de sementes.

Figura 55: Planta da espécie nº 390 mostrando caules e botões florais pilosos e com coloração púrpura-avermelhada.



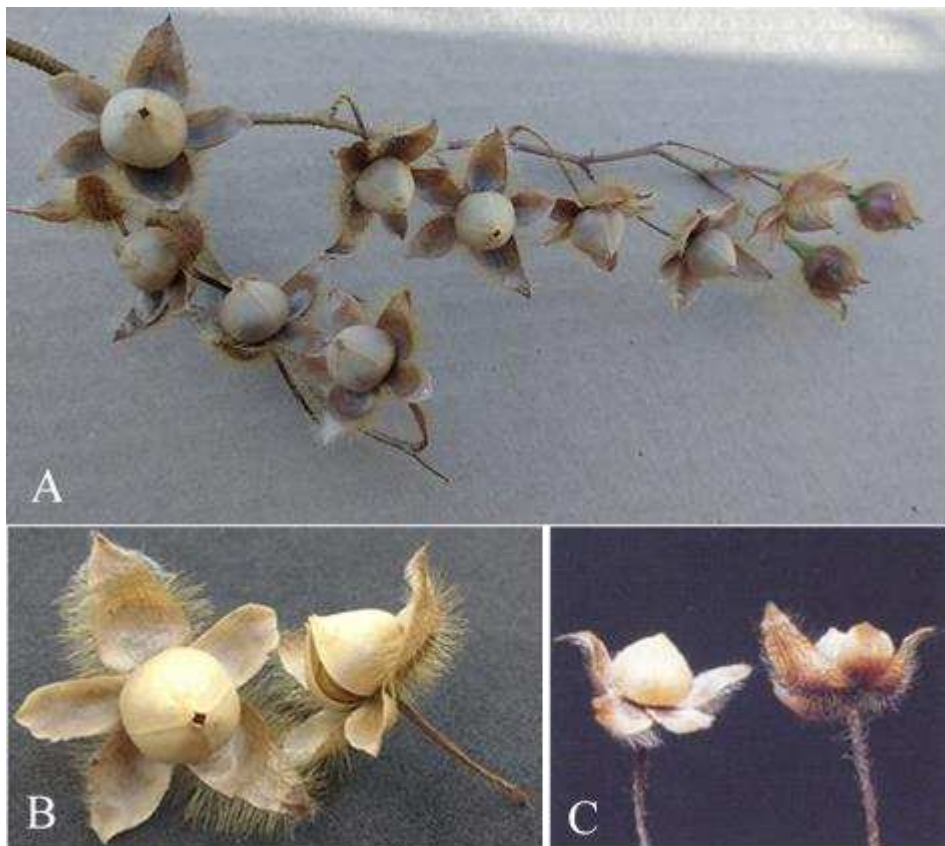
Fonte: Fotografia da autora.

Figura 56: Planta da espécie 390. A. Folhas 5-palmatilobadas. B. Flores com corola branca.



Fonte: Fotografia da autora.

Figura 57: A. Cacho de frutos da espécie 390. B. Fruto da espécie 390; C. *Distimake aegyptius*. (L.) A.R. Simões & Staples



Fonte: A, B. Fotografia da autora. C (Kissmann & Groth, 1999).

3.7.2 Unidade de dispersão

3.7.2.1 Por referências bibliográficas

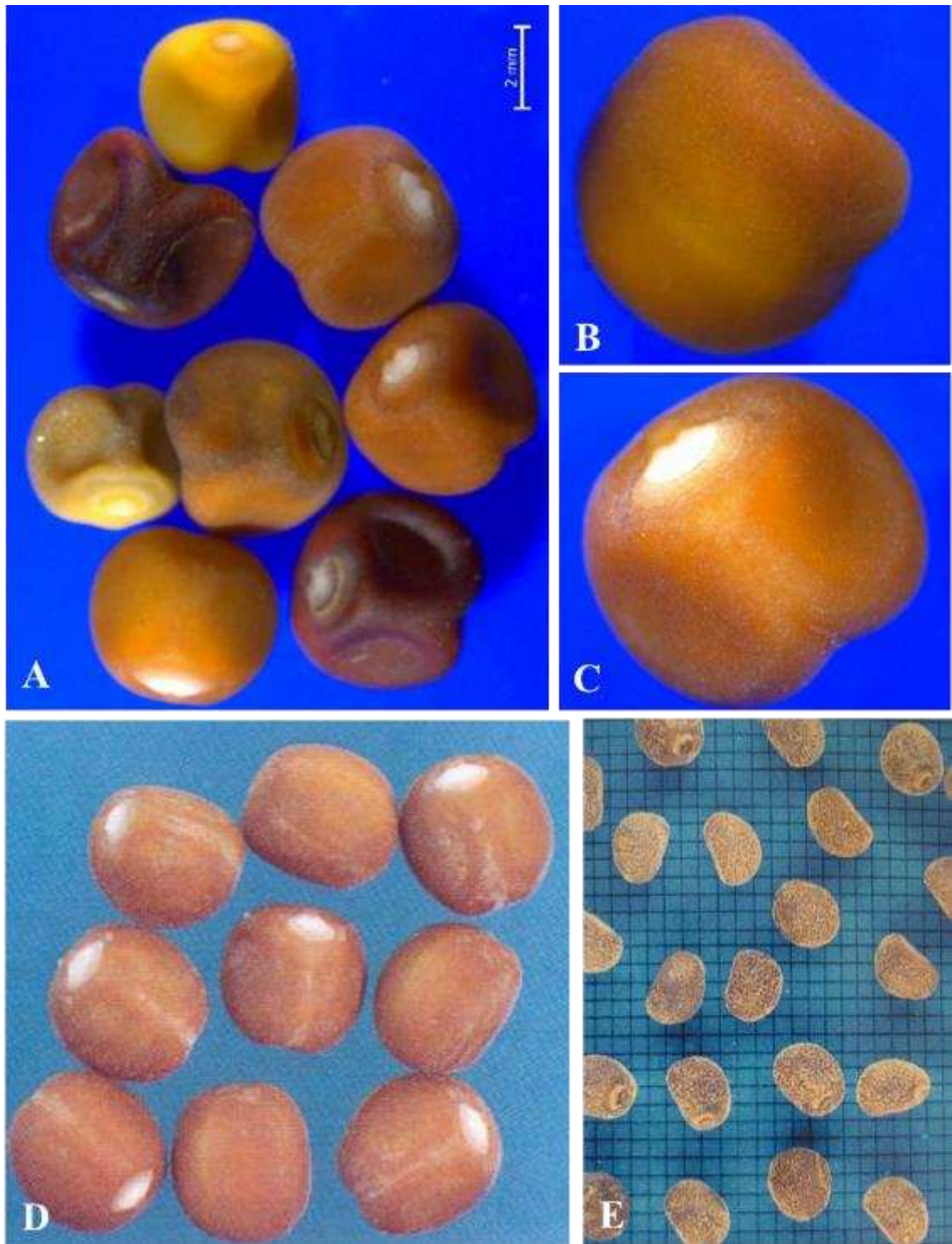
As sementes da espécie nº 390 possuem formato globoso-cuneiforme com contorno irregularmente orbicular e medem 4,0-5,0 mm de comprimento por 4,0-5,0 mm de largura e 3,0-4,0 mm de espessura. A maioria das sementes apresenta tegumento alaranjado, algumas são mais escuras, com coloração castanho-amarelado-escuro (Figura 58A). Possuem superfície fosca, glabra, levemente brilhante, finamente pontilhada quando observada no aumento de 10 vezes ou maior. Apresentam três faces, duas ventrais e uma dorsal, possuindo uma nítida listra na separação entre o lado dorsal e ventral (Figura 58B). O hilo é fosco, glabro com aspecto áspero e coloração branca (Figura 58C).

Tais características coincidem com as descritas na literatura para as sementes de *Merremia aegyptia* (L.) Urb (Figura 58D), cujo nome científico atualmente aceito é *Distimake aegyptius* (L.) Simões & Staples e são distintas de outras espécies deste gênero que já tiveram as sementes descritas (Groth, 2001; Kissman & Groth, 1999).

As sementes da espécie *Distimake dissectus* (Jacq.) Simões & Staples não podem ser confundidas com as sementes da espécie nº 390 porque são maiores (7,0-9,0 mm de comprimento por 6,0-7,2 mm de largura e 5,0-5,5 de espessura) e apresentam tegumento preto e hilo castanho escuro, quase preto. Na mesma direção, sementes de tamanho semelhantes, como as de *Distimake macrocalyx* (Ruiz & Pav.) Simões & Staples e mesmo as de *Distimake cissoides* (Lam.) Simões & Staples (Figura 58E), que possuem formato e coloração mais próxima à da espécie nº 390, se diferenciam desta pela presença de pelos e/ou outros indumentos em seus tegumentos (Groth, 2001, Kissman & Groth, 1999).

Além das quatro espécies descritas por Kissman e Groth (1999) e Groth, 2001, existem mais 10 espécies e uma variedade do gênero *Distimake* com registro de ocorrência em Minas Gerais. Pode-se afirmar que nove dessas espécies são distintas da espécie nº 390, pois ao contrário desta, que é glabra, possuem indumento puberulento ou pubescente (REFLORA, 2020). Nada se sabe sobre as sementes de outra espécie, *Distimake repens* (D.F. Austin & Staples) Petrongari & Sim.- Bianch., da variedade, *Distimake dissectus* var. *edentatus* (Meisn.) Petrongari & Sim.-Bianch, nem mesmo se são glabras. Sendo assim, é impossível afirmar que as sementes da espécie nº 390 não podem ser de uma delas.

Figura 58: A. Sementes da espécie nº 390 com variação de formato, cor e tamanho; B. Semente da espécie 390 com listra mais clara separando o lado dorsal do ventral; C. Semente da espécie 390 com as duas faces e o hilo branco do lado ventral; D. *D.aegyptius* E. *D. Cissoides*



Fonte: A, B, C fotos da autora D. (Kissman & Groth, 1997) E. (Lorenzi, 2014).

3.7.2.2 Comparação com amostras de coleções

O formato geral das sementes da espécie 309, com seção transversal em forma de cunha, três faces, uma dorsal e duas ventrais e hilo basal são típicas da família Convolvulaceae. Das 35 amostras de sementes dessa família existentes no LASO-MG,

foram selecionadas nove amostras com formato próximo e dimensões semelhantes às da espécie em estudo para comparação em microscópio-estereoscópio.

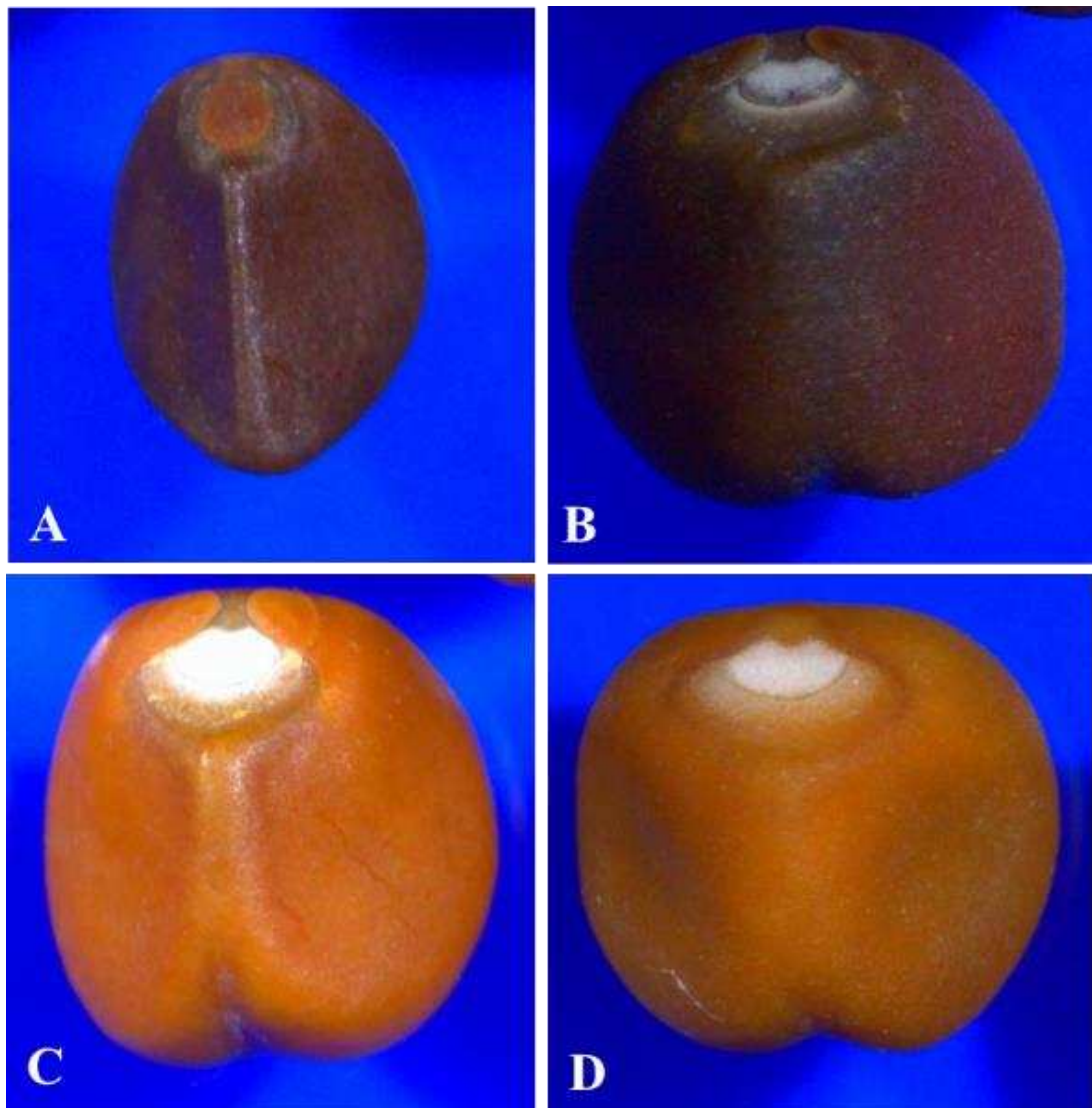
Seis das amostras observadas não podem ser da espécie nº 309, pois ao contrário desta, possuem tegumento tomentoso: (*Ipomoea cairica* (L.) Sweet., *Ipomoea fimbriosepala* Choisy, *Ipomoea nil* (L.) Roth, *Ipomoea purpurea* (L.) Roth) ou com tufo de pelos curtos (duas amostras de *Merremia cissoides* (Lam.) Hall.f.). Por outro lado, apesar das sementes de *Ipomoea triloba* L serem glabras, são menores que a espécie em estudo e possuem hilo marrom avermelhado (Figura 59A).

Somente as sementes de amostras de *Merremia aegyptia* (L.) Urban, amostras 106 (Figura 59B) e 519 (Figura 59C), apresentaram características compatíveis com as da espécie em estudo (Figura 59D). As amostras de *M. aegyptia* também são as únicas existentes na coleção do LASO-MG com tegumento e área hilar glabras e hilo branco.

Entretanto, provavelmente devido ao estágio mais avançado de maturidade, as saliências em formato de ferradura existentes na parte basal do hilo são mais marcantes nessas amostras do que nas sementes em estudo (Figura 59D), além disso, de uma forma geral, os tegumentos das sementes da amostra nº 106 possuem tonalidade marrom mais escura (Figura 59C e 59B).

Consequentemente, as sementes da espécie 390 foram identificadas como *Merremia aegyptia* (L.) Urban, cujo nome atual é *Distimake aegyptius* (L.) A.R. Simões & Staples (REFLORA, 2020). Ressalta-se que esta identificação foi realizada com um bom grau de confiança, pois as características das sementes de *D. aegyptius* são muito semelhantes às da espécie 390 e bem distintas de outras da família Convolvulaceae existentes no LASO-MG, inclusive de *D. cissoides* que além do tegumento não ser glabro, possui hilo preto (Figura 60).

Figura 59: Sementes da família Convolvulaceae com tamanhos semelhantes à espécie nº 390 existentes na coleção do LASO e a espécie em estudo: A. *Ipomoea triloba* L; B. Amostra nº 106 de *D. aegyptius* (L.) A.R. Simões & Staples; C. Amostra nº 519 de *D. aegyptius*; D. Espécie 390.



Fonte: Fotografia da autora.

Figura 60: Comparação entre sementes de: A. *D. aegyptius* (amostra certificada nº 559); B. Espécie 390; C. *Distimake cissoides* (Lam.) Simões & Staples (amostra nº 788).



Fonte: Fotografia da autora.

3.7.2.3 Comparação entre resultados dos tipos de identificação de unidades de dispersão

Utilizando-se as duas formas de identificação, as sementes da espécie nº 390, foram identificadas como *Distimake aegyptius* (L.) A.R. Simões & Staples. Para tanto, foram examinadas descrições de 12 das 14 espécies do gênero *Distimake* com registro de ocorrência no estado de Minas Gerais.

Não há informações sobre as sementes. Assim, a probabilidade das sementes da espécie nº 390 ser da espécie *Distimake repens* (D.F. Austin; Staples) Petrongari & Sim.-Bianch, é muito pequena, pois trata-se de uma espécie nativa, endêmica do cerrado brasileiro e que não é citada como planta infestante (Kissmann & Groth, 1997, 1999, 2000; Moreira & Bragança, 2011). *Distimake dissectus* var. *edentatus* (Meisn.) Petrongari; Sim.- Bianch também não é descrita como infestante.

Por outro lado, a comparação com espécies das coleções utilizou seis amostras da família Convolvulaceae, sendo duas de *D. aegyptius*, uma delas certificada. Não existe outra espécie no gênero *Distimake* nas coleções do LASO-MG. A comparação ao microscópio-estereoscópio foi muito importante para garantir uma identificação mais segura, pois as fotografias de *D. aegyptius* disponíveis na literatura não possibilitam a observação de detalhes fundamentais na identificação. Desta forma, novamente o resultado de uma forma de identificação ratificou o outro e são complementares.

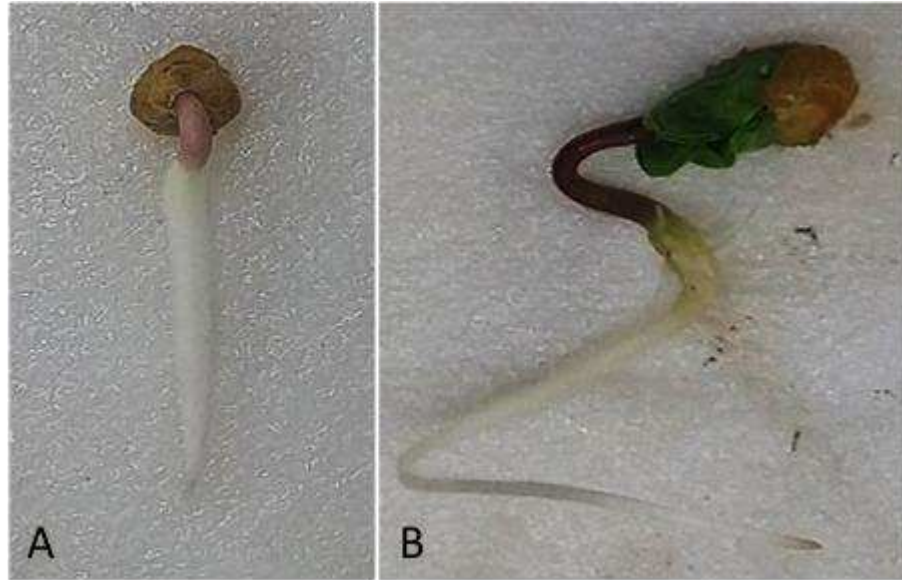
3.7.3 Planta jovem

A germinação das sementes da espécie nº 390 aconteceu muito lentamente tanto a temperatura 25°C quanto a 20-30°C. Isto ocorreu porque a maioria das sementes não absorveu água prontamente, evidenciando que a espécie apresenta dormência devido à impermeabilidade do tegumento. Independente da temperatura, a protusão radicular iniciou-se no segundo dia após a sementeira, porém apenas 1% das sementes germinou neste dia. Aos 30 dias, 18% das sementes haviam germinado e ao final de 180 dias, quando ocorreu a estabilização, a porcentagem de germinação de 87% a 20-30°C e de 83% a 25°C.

A germinação da espécie é fanerocotiledonar epígea fotossintetizante (Garwood, 1996; Ibarra-Manríquez, Martínez e Oyama 2001). Primeiramente ocorre a protusão da raiz, que é branca e pivotante, em seguida um hipocótilo de coloração púrpura emerge

primeiro formando uma alça, depois se expandindo e, então, as folhas cotiledonares desprendem-se do tegumento e se abrem. A região de transição entre a raiz e o hipocótilo apresenta pilosidade (Figura 61).

Figura 61: Espécie nº 3390. A. Protrusão da raiz; B. Plântulas raiz, hipocótilo e folhas cotiledonares desprendendo-se do tegumento.



Fonte: Fotografia da autora.

Plântulas originadas de sementes germinadas transferidas recipientes com substratos orgânicos iniciaram a emissão da primeira folha aos 4-5 dias após a o transplante, estando com a primeira folha formada aos dias 6-7, e a segunda folha aos 10-11 dias. Apesar da lentidão da germinação, foi possível a confecção de exsiccatas de plantas com primeiro par de folhas desenvolvido, originadas das primeiras sementes germinadas, aos 12-14 dias após sementeira (Figura 62).

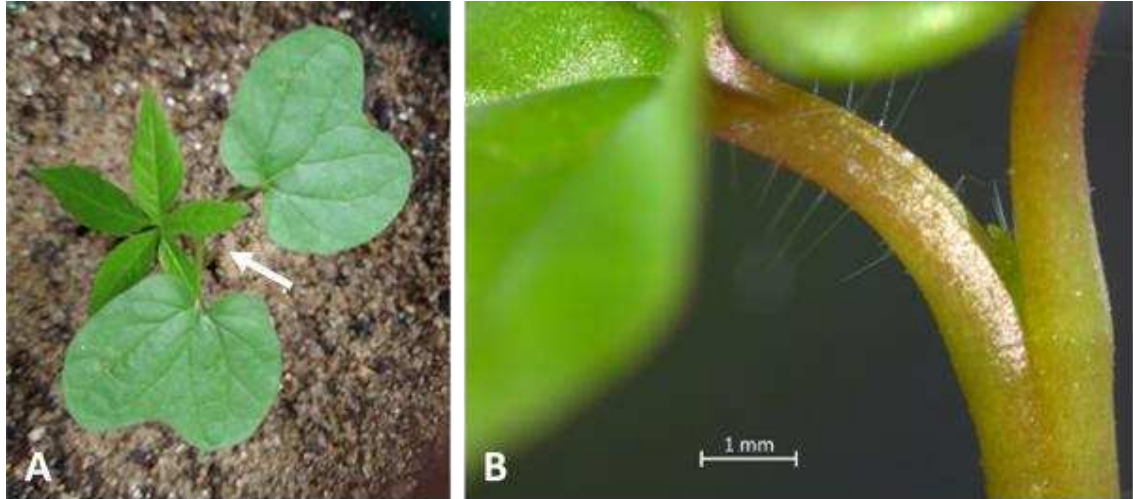
Figura 62: Exsicata da planta jovem da espécie nº 390, obtida aos 14 dias após a semeadura.



Fonte: Fotografia da autora.

As plantas jovens da espécie nº 390 possuem raiz primária pivotante, de onde se derivam finas e numerosas raízes primárias. O hipocótilo e epicótilo são cilíndricos, verdes; as folhas cotiledonares têm bordos íntegros, limbo reniforme, bilobada na base e no ápice, sendo os lóbulos frontais divergentes e os da base convergentes e pecíolo levemente piloso. O limbo das folhas cotiledonares apresenta três nervuras que se originam no pecíolo e se ramificam irregularmente abrindo-se em direção às bordas, sem, entretanto, atingir esta extremidade (Figura 63, e Figura 64A e 64B).

Figura 63: Espécie 390. A. Plântula jovem com folhas cotiledonares e primeira folha verdadeira. B. Detalhe da pilosidade do pecíolo da folha cotiledonar.



Fonte: Fotografia da autora.

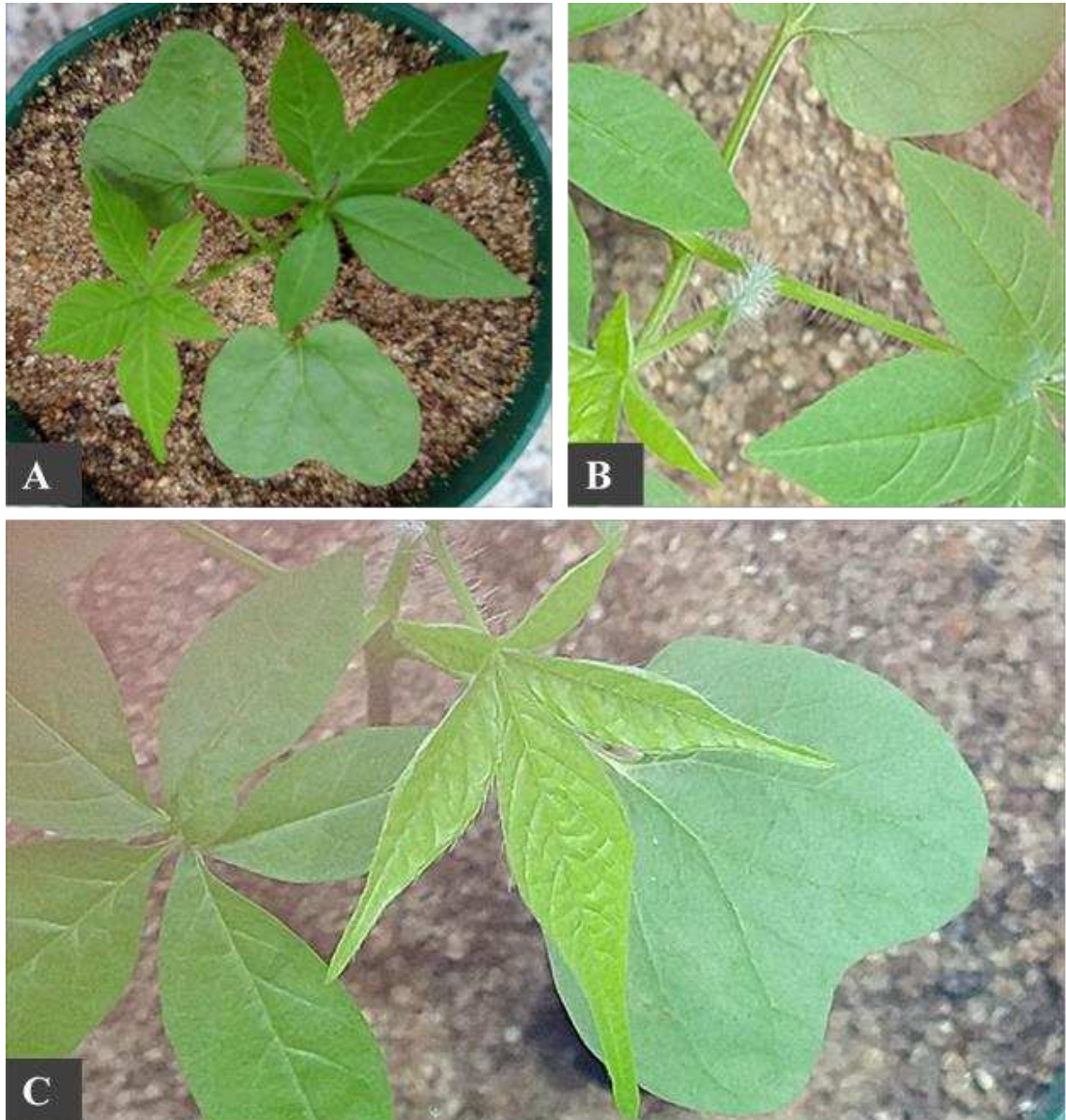
O primeiro par de folhas verdadeiras apresenta margens inteiras e pilosas, lâmina foliar palmatilobada com cinco segmentos elípticos/lanceolados, com bases cuneadas e ápices agudos/acuminados. O lobo central é o mais longo, os dois medianos têm comprimento intermediário e os da base são curtos, todos os segmentos têm coloração verde e a nervura central bem visível, enquanto as nervuras secundárias são menos proeminentes e curtas, não atingindo as margens dos segmentos foliares (Figura 64A, 64B e 64C).

Observando-se as fotografias das plantas jovens das 157 espécies existentes em Lorenzi (2014), constata-se que apenas algumas espécies da família Convolvulaceae apresentam folhas cotiledonares com formato reniforme, semelhantes às da espécie 390. Dessas, a mais semelhante é a *Merremia cissoides* (Lam) Hallier f. (nome atualmente aceito: *Distimake cissoides* (Lam.) A.R. Simões & Staples), não só pelo formato e detalhes da folha cotiledonar, mas também pelas folhas verdadeiras apresentarem, como a espécie 390, lâmina foliar palmatilobada. No entanto, *D. cissoides* possui folhas verdadeiras com margem dentada (Figura 65A), enquanto, na espécie nº390, as folhas têm margens inteiras.

Kissmann e Groth (1999) descreveram além de *D. cissoides*, plantas jovens de mais duas espécies deste gênero: *Merremia aegyptia* (L) Urban (nome atual: *Distimake aegyptius* (L.) A.R. Simões & Staples) e *Merremia dissecta* (Jacq.) Hall. f. (nome atual: *Distimake dissectus* (Jacq.) A.R. Simões & Staples). As características morfológicas da espécie nº 390 são diferentes quanto ao formato e margens da folha verdadeira de *D.*

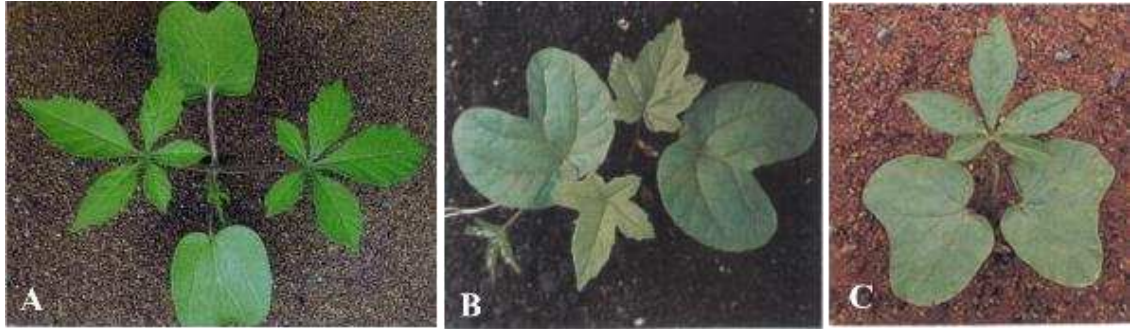
cissoides (Figura 65A) e de *D. dissectus* (Figura 65B), mas concordam o observado para por esses autores quanto a espécie *D.aegyptius* (Figura 65C).

Figura 64: Espécie 390. A. Plântula jovem com folhas cotiledonares e as duas primeiras folhas verdadeiras. B. Detalhe da pilosidade do pecíolo das folhas verdadeiras. C. Detalhes das folhas mostrando pilosidade nas margens.



Fonte: Fotografia da autora.

Figura 65: Plantas jovens: A. *Distimake cissoides* (Lam.) A.R. Simões & Staples (Lorenzi, 2014); B. *Distimake dissectus* (Jacq.) A.R. Simões & Staples; C. *Distimake aegyptius* (L.) A.R. Simões & Staples.



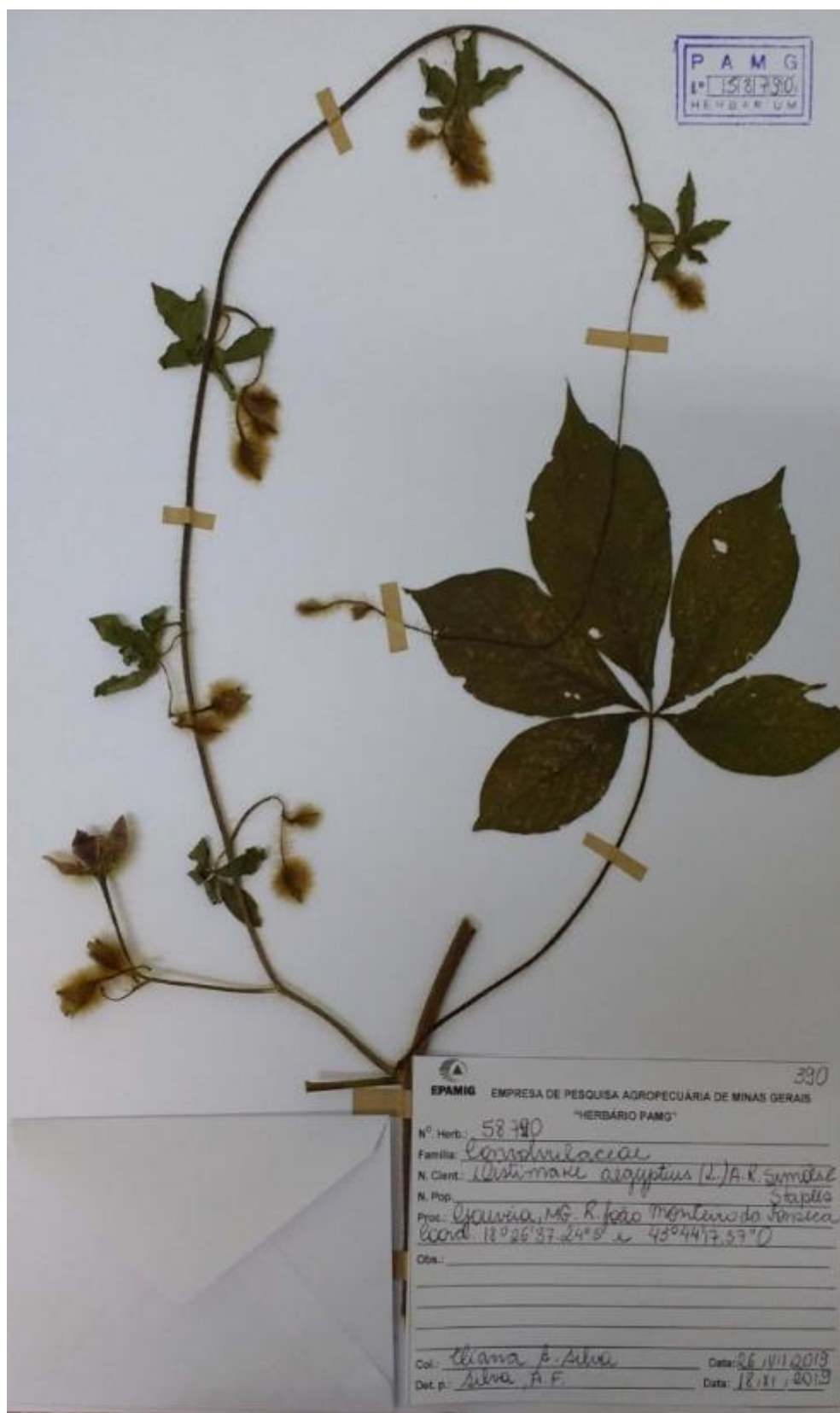
Fonte: A. (Lorenzi, 2014); B, C. (Kissmann & Groth 1999).

Todavia, além das espécies com plantas jovens descritas por Kissmann e Groth (1999), existem mais 11 espécies e uma variedade do gênero *Distimake* com registros de ocorrência no estado de Minas Gerais (REFLORA, 2020), das quais não há informação sobre as características das plantas jovens. Assim, não se sabe se a planta jovem da espécie 390 poderia ser de uma delas.

3.7.4 Identificação botânica por especialista

A espécie foi identificada n° 390 por especialista como *Distimake aegyptius* (Lam.) A.R. Simões & Staples., da família Convolvulaceae e sua exsicata foi depositada no herbário PAMG, pertencente à Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG (Figura 66).

Figura 66: Exsicata da espécie 390 depositada em 20.11.2019 no Herbário PAMG, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG com registro 58790 e identificada como *Distimake aegyptius* (Lam) A.R. Simões & Staples.



Fonte: Fotografia da autora.

3.8 Comparação entre as diversas formas de Identificação

3.8.1 Identificação a campo

Todas as identificações realizadas a campo coincidiram com aquelas realizadas por especialista em botânica. Um fator que contribuiu para a exatidão da identificação foi que a maioria das espécies selecionadas apresentou características marcantes, facilitando a sua identificação. Exemplo disso são as flores e frutos de *A. curassavica* e *N. physalodes* (Kissmann & Groth; 1999, 2000) e das panículas formando bandeiras sedosas típicas de *D.insularis* (Kissman & Groth, 1997). Quanto a esta última também contribuiu o fato de que a maioria das espécies semelhantes à mesma não ocorrem no estado de Minas Gerais. Assim, esta espécie é a única com registro neste Estado, é também nativa do Brasil (REFLORA, 2020), Que Não É Citada Como Planta Infestante (Kissmann & Groth, 1999; Moreira & Bragança; 2011).

Outra explicação na identificação acertada a campo é a riqueza de detalhes e ilustrações existentes no material utilizado como referência Kissmann e Groth (1997, 1999, 2000) e Moreira e Bragança (2011). Já Lorenzi (2014) se destaca pelas ilustrações e por muitas vezes fornecer informações sucintas, importantes para a distinção de espécies, a exemplo do número de aristas predominantes nos aquênios de *B. subalternans*.

Dessa forma, entende-se que uma vez que a identificação a campo seja feita com os cuidados realizados neste trabalho e existam referências confiáveis disponíveis o mais esperado é que sejam obtidas identificações confiáveis por esta metodologia. Por outro lado, podem ocorrer enganos se existirem espécies “próximas” não relatadas na literatura ou “muito próximas”, como ocorrem no gênero *Amaranthus*.

Nesse contexto, a principal finalidade da identificação botânica é a validação da identificação a campo, o que garantirá resultados mais confiáveis.

3.8.2 Identificação por plantas jovens

Em apenas três das sete espécies, foi possível realizar a identificação botânica utilizando-se as características das plantas jovens, sendo a espécie nº 360, *Melampodium perfoliatum*, a nº 384, *Cyperus rotundus* e a nº 390, *Distimake aegyptius*. Quanto a espécie nº 309, constatou-se que muito provavelmente trata-se de *Nicandra*

physalodes. Contudo, não foi possível obter imagens de plantas no mesmo estágio de crescimento e desenvolvimento das observadas neste trabalho para que esta probabilidade fosse confirmada. Em relação às espécies nº 309 e 333 considerou-se que uma das alternativas plausíveis é que sejam respectivamente as espécies *Asclepias curassavica* e *Digitaria insularis*. Nenhum destes seis resultados contrariou a identificação realizada por especialista (Tabela 4).

Em contraste, quanto a espécie nº 326 só foi possível determinar que se trata do gênero *Bidens* e que esta planta jovem é diferente das descrições e ilustrações existentes na literatura para *Bidens subalternans* var. *subalternans* (ver detalhes no subitem 3.3.2.3). Tal fato torna discordantes os resultados obtidos pelas outras formas de identificação, as quais identificaram essa espécie como *B. subalternans* (Tabela 4). Esta ocorrência pode estar relacionada a uma plasticidade intraespecífica (ocorrência de variações na morfologia das folhas, devido fatores genéticos ou ambientais) comuns em espécies silvestres (Cardoso & Lomônaco, 2003) e que não foi observada por Kissmann e Groth (1999).

Outra explicação possível é que os aquênios coletados sejam originados de hibridação interespecífica, já que espécies como *B. alba*, *B. pilosa* e *B. subalternans*, são muito próximas, como demonstram análises moleculares, podendo estas duas últimas serem consideradas da mesma espécie (Grombone-Guaratini, Solferini & Semir 2004). Em qualquer das hipóteses, devem ser tomadas providências para esclarecer esta discordância na identificação antes de se realizar a identificação final da espécie nº 326 (Tabela 4).

A identificação por meio de plantas jovens foi o método que apresentou maior grau de incerteza sendo também o mais difícil de executar. Tais entraves se deveram principalmente à carência de material bibliográfico, especialmente de descrições e ilustrações mais detalhadas, que estão disponíveis apenas para algumas espécies de plantas daninhas, a exemplo de *Chenopodium álbum* L. (Singh *et. al.* 2007). Além disso, para as espécies em estudo, só foram localizadas chaves taxonômicas do gênero *Digitaria*, porém sem contemplar espécies da seção *Trichachne* existentes no Brasil (Singh *et. al.* 2016).

Não há ainda uma metodologia padronizada, que determine o estágio em que as plantas jovens devem ser descritas de forma a coincidir com a presença de estruturas suficientemente diferenciadas para possibilitar a identificação de espécies. Não foram localizados também trabalhos com descrição do tipo de germinação e de plântulas das

espécies em estudo, como estão disponíveis para espécies do gênero *Digitaria* e outras de *Chenopodium* spp (Singh *et. al.* 2007; 2016).

A metodologia de germinação das unidades de dispersão, utilizada neste trabalho, permitiu a obtenção de plantas jovens de todas as sete espécies, inclusive daquelas que apresentaram dormência ou sementes imaturas. Contudo, a emissão do primeiro par de folhas verdadeiras exigiu intervalos de tempo entre 9-12 a 21 dias, dependendo da espécie. Isso ocorreu mesmo quando foi utilizada a temperatura mais adequada para germinação, que na maioria das espécies foi a temperatura alternada de 20-30°C, o que coincide com os resultados de diversas pesquisas realizadas com sementes de plantas daninhas (Mondo *et. al.*, 2010; Carmona & Vilas-Boas, 2001).

Foi observado também que a utilização das exsicatas de plantas jovens na identificação destas plantas é limitada, já que esta forma de conservação não possibilita a observação de algumas características importantes neste estágio, como a presença de tricomas. Desta forma, a observação direta das plantas jovens, inclusive sob microscópio-estereoscópio e o registro destas observações por meio de fotografias foi mais eficaz.

A observação de mais de uma planta jovem de cada espécie também é recomendada, especialmente em gêneros que podem apresentar diferenças significativas no formato das folhas. A utilização de mais de uma planta jovem também permite observar se há variância ou constância de características entre indivíduos. Essa última vantagem foi observada no cultivo de plantas jovens da espécie nº 326.

Diante do tempo exigido, da baixa eficiência desta forma de identificação para as espécies deste trabalho, não parece ser aconselhável utilizar apenas este método quando se deseja obter amostras de unidades de dispersão com identificação confiável. De forma geral, seu uso pode se justificar quando há suspeitas de haver misturas de espécies em uma amostra ou quando há suspeitas de enganos ou trocas na identificação do material coletado a campo.

Neste sentido, sua utilização é especialmente válida quando não é possível determinar a espécie apenas pela identificação das sementes, a exemplo do informado por Leist e Jonitz (2009) para sementes do gênero *Rumex*. É também recomendado como uma forma de aumentar a confiabilidade da identificação final pela utilização de todas as formas de identificação possíveis. Também como uma alternativa de verificação e confirmação de outros tipos de identificação, como está sendo feito neste estudo (Tabela 4).

3.8.3 Identificação de unidades de dispersão por referências bibliográficas

Em cinco das sete espécies, foi possível realizar a identificação botânica utilizando-se as unidades de dispersão por referências bibliográficas (Tabela 4). Todavia, não foi possível identificar com precisão as espécies 305 e 326. Além disso, a identificação da espécie 384 como *Cyperus rotundus* L. só foi possível quando se utilizou também as características das espiguetas, o que de certa forma já era esperado, visto que já foi constatado que as características macromorfológicas das núculas deste gênero têm características muito próximas e de difícil distinção (Hefler & Longhi-Wagner, 2008). Por outro lado, o formato e cor das espiguetas são características chaves na identificação das plantas de *Cyperus rotundus* (Kissmann & Groth, 1997), sendo esta espécie mais definida pela macromorfologia reprodutiva (panículas) (Hefler & Longhi-Wagner, 2008).

Quanto à espécie nº 305, constatou-se que as sementes podem ser de *Asclepias curassavica* ou de *Oxypelatum banksii* (Tabela 4). Isso ocorreu principalmente devido à ausência de descrição e de fotografias com alta resolução desta última espécie. No entanto, não se sabe se a distinção entre estas espécies seria possível se essas informações e imagens estivessem disponíveis na literatura, ou as sementes são realmente tão próximas que não seria possível identificá-las mesmo com esta disponibilidade.

Por outro lado, as características das amostras dos aquênios da espécie nº 326 se assemelham com todas aquelas obtidas para *B. subalternans*, inclusive com o fato da maioria dos aquênios possuírem quatro aristas (Tabela 4). Contudo, não foi possível excluir totalmente a possibilidade dos aquênios da espécie nº 326 serem de *B. bipinnata*. Há relatos (Korkmaz, Mumcu, & Alkan, 2011) de amostras desta espécie com aquênios 4-aristados, embora não seja o mais comum e, também, porque a diferença de tamanho entre os aquênios da espécie nº 326 e de *B. bipinnata* é muito pequena. Vale ressaltar que nenhum dos resultados obtidos por esta forma de identificação excluiu a possibilidade das unidades de dispersão da amostra nº 326 serem da espécie determinada pelo especialista (Tabela 4), e para as espécies em que a identificação foi exata, houve coincidência com a espécie determinada pelo especialista.

Por outro lado, quando se compara a identificação por unidades de dispersão realizada por referência com aquelas realizadas por meio das plantas jovens, observa-se que há contradição entre os resultados da espécie nº 326, já que as características da

planta jovem não concordaram com as da espécie *B. subalternans* var. *subalternans*. Contudo, em todas as outras formas de identificação a espécie 326 foi determinada como *B. subalternans* ou possivelmente *B. subalternans*.

Constatou-se que há uma grande disponibilidade de descrições e especialmente fotos com alta resolução de unidades de dispersão em sites especializados (USDA, 2020; CANADA.CA, 2020; Wildflower Center, 2020; Lucidcentral, 2020). Na literatura impressa a disponibilidade de informações de unidades de dispersão é maior que de plantas jovens. Mesmo assim, a indisponibilidade de informações detalhadas das unidades de dispersão impediu identificações exatas para pelo menos duas espécies deste estudo.

Durante a identificação de unidades de propagação por referências bibliográficas, uma grande dificuldade encontrada foi entender as descrições e os termos botânicos usados nestas plantas. A morfologia e nomes das estruturas das unidades de dispersão são um estudo muito especializado que não é abordado nos cursos de graduação em agronomia, como ocorre com a morfologia/taxonomia de plantas. Outro desafio, que é comum também à identificação das unidades de dispersão, é a ocorrência de variações morfológicas e de cor nestas unidades, mesmo quando estas são provenientes de uma mesma planta, fruto, capítulo ou panícula.

A complexidade é ainda maior quando se trata de unidades de dispersão que possuem polimorfismo, como é o caso dos aquênios do gênero *Bidens*, para as quais a observação da variação da morfologia dos aquênios é essencial na identificação, sendo inviável identificar aquênios individualmente.

O desafio é maior quando se procura determinar a espécie sem utilizar identificação provável planta de onde foram coletadas estas unidades de dispersão. Isso é particularmente verdadeiro quando o responsável não tem a experiência suficiente em identificar unidades de dispersão e por isso não é capaz de determinar a sua família botânica. Neste caso, torna-se necessário uma ampla consulta à literatura, especialmente daquelas que além de descreverem, disponibilizam imagens das unidades de dispersão. Também é importante lembrar que a identificação por unidade de dispersão só é possível com observação da amostra sob microscópio-estereoscópio.

Diante disso entende-se que a identificação de unidades de dispersão por referências bibliográficas apresenta um grau de dificuldade alto para a maioria das espécies e limitações importantes ao ser utilizado separadamente. Contudo, pode ser

utilizado como um método complementar em controles de qualidade ou quando há suspeita de misturas de amostras ou de identificação trocada no campo.

3.8.4 Identificação de unidades de dispersão comparação por amostras de coleções

Utilizando-se esta forma de identificação, foi possível determinar a espécie das sete amostras em estudo, sendo esta identificação coincidente com aquela obtida a campo e por especialista (Tabela 4).

No entanto, tal fato não possibilita afirmar que esta forma de identificação é mais segura e mais eficaz que a identificação unidades de dispersão por referências bibliográficas. Por esta forma de identificação determinou-se o nome científico da espécie 305. Todavia, foram observadas duas opções para a espécie 326 quando a identificação foi realizada utilizando referências bibliográficas. Tal fato não ocorreu por maior exatidão do método de comparação, mas sim porque não havia amostras de *Oxypetalum banksii* em nenhuma das coleções do LASO-MG.

Outro exemplo ocorreu com a espécie nº 326, para a qual, como já comentado no subitem 3.2.2.3, a exclusão da possibilidade dos aquênios desta espécie ser de *B. bipinnata* pelo método da comparação com amostras de coleção pode ter sido equivocada. O motivo é que as amostras de *B. bipinnata* existentes na coleção do LASO-MG podem ter sido identificadas erroneamente.

Assim como na identificação das unidades de dispersão por referência, para a identificação por comparação com amostras é necessária a observação das amostras sob microscópio-estereoscópio. Outro fator limitante na utilização deste método é a necessidade de se dispor de amostras de unidades de dispersão semelhantes à amostra a ser identificada e esta identificação só é segura se as amostras das coleções utilizadas tiverem identificação confiável. Neste sentido, o ideal é que sejam utilizadas somente amostras certificadas, porém a disponibilidade destas, especialmente para espécies tropicais, é muito restrita.

O grau de dificuldade da identificação por este método depende muito da família e mais especificamente do gênero da espécie em estudo. Por exemplo, a identificação de espécies da espécie nº 305 foi muito mais fácil de ser feita que a da 326. Os desafios também variam de acordo com a experiência do identificador. Neste sentido, a supervisão de uma analista experiente durante a identificação por comparação reduziu a dificuldade, pois com o tempo, os analistas criam uma espécie de álbum/biblioteca

mental onde são armazenadas as imagens que existem na coleção, e ao observarem as unidades de dispersão já indicam a que família pertencem.

3.8.5 identificação botânica por especialista

A qualidade e representatividade do material coletado e herborizado possibilitaram que o especialista em botânica confeccionasse pelo menos uma exsicata de cada uma das sete espécies em estudo e também a identificação de todas em nível de espécie (Tabela 4). Contribuíram para essas identificações os registros fotográficos realizados durante a seleção, acompanhamento a campo e beneficiamento dos frutos, panículas ou capítulos. É importante ressaltar que não foram necessárias consultas a botânicos especializados nas respectivas famílias das espécies coletadas visando obter a identificação destas.

Entretanto, no site Re flora não há registros de ocorrência da espécie *Melampodium perfoliatum* (Cav.) Kunth (identificação dada à espécie 360). De acordo com esse site, só há registros de ocorrência de duas espécies deste gênero no Brasil e nenhuma delas é o *M. perfoliatum*. Também não existem registros dessa espécie no Brasil em dois outros sites (USDA, 2020; Tropicos, 2020).

Tal ausência em sites de taxonomia pode ser devida à introdução desta espécie ser relativamente recente no Brasil (Kissmann & Groth; 1999). De acordo com esses autores, a primeira constatação desta espécie foi na região de São Gotardo, Estado de Minas Gerais, de onde se difundiu para o Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. Há ainda relatos de sua presença em diversos municípios mineiros (Brighenti *et al* 2003; Curtinhas *et al* 2015; De Oliveira *et al* 2009; Laca-Buendia & Maricondi 2000; Mendes *et al* 2013; Tavares-Silva *et al*, 2018), também em Goiás (Da Silva *et al*, 2015) e em São Paulo (Junior *et al* 2015a, 2015b).

Outra hipótese para explicar esta situação é o nome dessa espécie tenha sido alterado, com mudança do gênero (Silva, 2019). Contudo, isso não é muito provável porque o nome *Melampodium perfoliatum* (Cav.) Kunth, consta como válido/atual em sites considerados.

3.9 Uso de todas as formas de identificação conjuntamente

Quando foram utilizadas todas as formas de identificação conjuntamente, mais as características da planta como um todo, foi possível determinar com segurança seis

das sete espécies. Classificou-se uma determinação como definida e confiável, quando nenhuma das formas de identificação utilizadas mostrou resultados contraditórios. Apenas a espécie nº 326 teve sua identificação considerada indefinida, passível de confirmação (Tabela 4).

Dado às hipóteses levantadas no subitem 3.8.2, propõe-se que a confirmação da identificação da espécie 326, seja realizada por um botânico especialista na taxonomia da família Asteraceae. Para tal seriam utilizadas não só as exsiccatas das plantas adultas depositadas no Herbário da EPAMIG, mas também outras exsiccatas de plantas adultas obtidas da sementeira e cultivo de aquênios da amostra da espécie nº 326. Melhor resultado seria obtido se for possível determinar separadamente a espécie das plantas obtidas de aquênios com diferentes morfologias.

A espécie *A. currasavica* (nº. 305) causou dúvidas na sua identificação em relação à espécie *O. banksii* por unidade de dispersão por meio de referências bibliográficas. No entanto, a dúvida pôde ser esclarecida devido às características da planta de *O. banksii*, ramos, folhas e flores serem muito diversas de *A. currasavica* (Kissmann & Groth, 1999; REFLORA, 2020).

Embora tenha se evidenciado que, no caso das espécies em estudo, a identificação a campo foi suficiente para se obter uma identificação concordante com aquela realizada por especialista (Tabela 4), considera-se que quanto mais formas de identificações forem utilizadas, maior a certeza e confiabilidade do processo.

Tabela 4: Resultados de formas de identificações de sete espécies por meio de unidades de dispersão para uso como amostras de coleção

Espécie	Forma de identificação					
	Planta a campo	Unidade de dispersão		Planta jovem	Por botânico	Todas + características das plantas
		Referências	Comparação			
305	<i>Asclepias curassavica</i> L.	<i>A. curassavica</i> ou <i>Oxypetalum banksii</i>	<i>A. curassavica</i>	Pode ser de <i>A. curassavica</i>	<i>A. curassavica</i>	<i>A. curassavica</i> ²
309	<i>Nicandra physalodes</i> (L.) Gaertn.	<i>N. physalodes</i>	<i>N. physalodes</i>	<i>N. physalodes</i> (provavelmente)	<i>N. physalodes</i>	<i>N. physalodes</i>
326	<i>Bidens subalternans</i> DC.	<i>B. subalternans</i> (+ provavelmente) ou <i>B. bipinnata</i>	<i>B. subalternans</i>	<i>Bidens</i> sp. ≠ de <i>B. subalternans</i>	<i>B. subalternans</i>	Indefinida ³
333	<i>Digitaria insularis</i> (L.) Fedde	<i>D. insularis</i>	<i>D. insularis</i>	Pode ser de <i>D. insularis</i>	<i>D. insularis</i>	<i>D. insularis</i>
360	<i>Melampodium perfoliatum</i> (Cav.) Kunth	<i>M. perfoliatum</i>	Não realizada ¹	<i>M. perfoliatum</i>	<i>M. perfoliatum</i>	<i>M. perfoliatum</i>
384	<i>Cyperus rotundus</i> L.	<i>C. rotundus</i> (inferido)	<i>C. rotundus</i> (inferido)	<i>C. rotundus</i>	<i>C. rotundus</i>	<i>C. rotundus</i>
390	<i>Distimake aegyptius</i> (Lam.) A.R. Simões & Staples	<i>D. aegyptius</i>	<i>D. aegyptius</i>	<i>D. aegyptius</i>	<i>D. aegyptius</i>	<i>D. aegyptius</i>

¹ Não foi possível realizar a comparação com sementes das coleções do LASO-MG porque não havia unidades de dispersão semelhantes às da espécie 360 nesta coleção.

² *Oxypetalum banksii* R.Br. ex Schult possuíam, folhas e flores com morfologia e cor diferentes da espécie nº 305.

³ Observar novamente as plantas jovens dos diversos tipos de aquênios separadamente e solicitar identificação por botânico especialista no gênero ou família antes de certificar a amostra.

4 CONCLUSÕES

- Para todas as espécies de plantas daninhas coletadas observou-se fácil ou mediano grau de complexidade das identificações botânicas, de forma que a simples observação da planta no campo foi suficiente para obter identificação confiável das amostras de unidades de dispersão de todas as espécies estudadas. A metodologia de coleta de frutos, capítulos e panículas possibilitou a obtenção de unidades de dispersão em quantidade suficiente para fornecer amostras para 50 laboratórios;
- A identificação das espécies por meio de unidade de dispersão usando referências bibliográficas ou por comparação com coleções não foi suficiente para determinar todas as espécies. Entretanto, são métodos complementares e possibilitam resultados mais confiáveis e exatos;
- A utilização de plantas jovens de forma independente, não mostrou ser uma boa forma para a identificação das espécies avaliadas; entretanto, quando esta técnica é utilizada em conjunto com outros métodos aumenta a confiabilidade dos resultados;
- Para as espécies avaliadas exsicatas completas de plantas adultas em conjunto com fotografias da morfologia, foram suficientes para o botânico identificar espécies sem a necessidade de consulta às especialistas nas famílias;
- Apesar de ter sido possível identificar sementes por métodos isolados e independentes, o uso simultâneo de vários métodos proporciona maior confiabilidade e segurança ao processo, consistindo em um meio eficiente de identificação, que pode ser utilizado como diretriz para a produção de amostras de referência.

5 REFERÊNCIAS

- ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. (2018). A sustentabilidade da carne brasileira. Recuperado a partir de <http://abiec.siteoficial.ws/images/upload/sumario-pt->
- ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. (2019). A sustentabilidade da carne brasileira. Recuperado a partir de <http://abiec.siteoficial.ws/images/upload/sumario-pt->
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. (2005). ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005: Requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro, Brasil.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. (2017). ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017: Requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro, Brasil.
- ABRASEM ANUÁRIO. Associação Brasileira de Sementes e Mudas. (2016). Recuperado a partir de http://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2013/09/Anuario_ABRASEM_2016_SITE.pdf
- ABRASEM ANUÁRIO. Associação Brasileira de Sementes e Mudas. (2018). Recuperado a partir de http://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2019/04/Arte_Anuario2018_COMPLETO_WEB.pdf
- Batista, R. W. M. (2004, setembro). Você sabe comprar sementes para pastagens. *Revista Sementes JC Maschietto*, Penápolis, (2).
- Bidens bipinnata. (2018). Taxonomy. Recuperado a partir de https://keys.lucidcentral.org/keys/v3/daisy_fruit/key/daisy_fruit/Media/Html/Bidens_bipinnata.htm
- Bogosavljević, S. S., & Zlatković, B. K. (2015). Two alien species of *Bidens* (Compositae), new to the flora of Serbia. *Phytologia Balcanica*, 21(2), 129-138.
- Bosch, CH, 2004. *Bidens bipinnata* L. [Internet] Record from PROTA4U. Grubben, GJH e Denton, OA (editores). PROTA (Recursos vegetais da África Tropical / Recursos vitais da África tropical), Wageningen, Holanda. Recuperado a partir de [https://uses.plantnet-project.org/en/Bidens_bipinnata_\(PROTA\)](https://uses.plantnet-project.org/en/Bidens_bipinnata_(PROTA))
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2008, maio). Instrução normativa nº 30, de 21 de maio de 2008. *Diário Oficial da União*.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2013, setembro). Instrução Normativa Nº 45, De 17 De Setembro De 2013. *Diário Oficial da União*
- Brighenti, A. M., de Castro, C., Gazziero, D. L. P., Adegas, F. S., & Voll, E. (2003). Cadastramento fitossociológico de plantas daninhas na cultura de girassol. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38(5), 651-657.

- Bringel Jr., João Bernardo de A., & Cavalcanti, Taciana Barbosa. (2009). Heliantheae (Asteraceae) na bacia do rio Paranã, (Goiás, Tocantins), Brasil. *Rodriguésia*, 60(3), 551-580. Recuperado a partir de <https://doi.org/10.1590/2175-7860200960306>
- Canada.ca (2017). Weed Seed: Nicandra physalodes (Apple of Peru). [Website]. *Government of Canada*. Recuperado a partir de <https://www.inspection.gc.ca/plant-health/seeds/seed-testing-and-grading/seeds-identification/nicandra-physalodes/eng/1475881649286/1475881649799>
- Cañas, G., & Alonso, D. (2005). Las especies colombianas del género digitaria (poaceae: panicoideae: paniceae). *Caldasia*.
- Cappers, R. T., Bekker, R. M., & Jans, J. E. (2006). *Digitale zadenatlas van Nederland*. Groningen: Barkhuis Publishing.
- Cardoso, Grace L., Lomônaco, Cecília. (2003, março). Variações fenotípicas e potencial plástico de Eugenia calycina Cambess. (Myrtaceae) em uma área de transição cerrado-vereda. *Rev. bras. Bot.* [Internet], 26(1), 131-140. Recuperado a partir de http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-84042003000100014&lng=en. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-84042003000100014>
- Carmona, R. & Villas Bôas, H. Dias da Costa. (2001). Dinâmica de sementes de Bidens pilosa no solo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36(3), 457-463. Recuperado a partir de <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2001000300009>
- Conabio (2020) *Asclepias curassavica* L. Recuperado a partir de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asclepiadaceae/asclepias-curassavica/fichas/ficha.htm>
- Conabio (2020) *Melampodium perfoliatum* (Cav.) Kunth Recuperado a partir de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/melampodium-perfoliatum/fichas/pagina1.htm>
- Conabio (2020) *Nicandra physalodes* (L.) Gaertn. Recuperado a partir de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/solanaceae/nicandra-physalodes/fichas/ficha.htm>
- Curtinhas, J. N., dos Santos, J. B., de Freitas Vicente, N. M., & Perez, A. L. (2015). Caracterização fitossociológica da vegetação herbácea de áreas alteradas pela atividade agropecuária na região do Médio Vale do Rio Doce, Minas Gerais. *Ceres*, 57(3).
- Da Silva, W. T., Karam, D., Vargas, L., Gazziero, D. L. P., & Gomes, T. C. (2015). Estudo fitossociológico de plantas daninhas nas culturas de milho e soja em Goiás. In: Anais do 22 Congreso Latinoamericano de Malezas; Congreso Argentino de Malezas, Buenos Aires. Ciencia e producción: hacia un manejo nacional: trabajos científicos. Buenos Aires: Asociación Argentina de Ciencia de las Malezas: Asociación Latinoamericana de Malezas.
- De Oliveira, M. F., Karam, D., Cruz, J. C., Corrêa, T., da Costa, C., Filho, I. A. P., & Queiroz, L. R. (2007). Plantas espontâneas e produção orgânica. *Embrapa Milho e Sorgo-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)*.

- Dias-Filho, M. B. (1998). Pastagens cultivadas na Amazônia oriental brasileira: processos e causas de degradação e estratégias de recuperação. In: DIAS, L. E., & MELLO, J. W. V. (Ed.). Recuperação de áreas degradadas. Viçosa, MG: UFV, 135-147.
- Dias-Filho, M. B. (2014). Diagnóstico das pastagens no Brasil. Embrapa Amazônia Oriental-Documentos (INFOTECA-E).
- Do Valle, C. B., Jank, L., & Resende, R. M. S. (2009). O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. *Ceres*, 56 (4), 460-472.
- Ferraz, J. B. S., & Felício, P. E. D. (2010). Production systems - an example from Brazil. *Meat. Science*, 84 (2), 238-243.
- Flora do Brasil 2020 em construção. (2020). Nicandra. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Recuperado a partir de <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB21154>
- Garwood, N.C. (1996). Functional morphology of tropical tree seedlings. In: Swaine MD (Ed). *Ecology of Tropical Forest Tree Seedlings: Man and the Biosphere series* (pp. 59-129). UNESCO/Parthenon, Paris, France.
- Gazeta. Europa reconhece a certificação para sementes de cereais e forrageiras. Recuperado a partir de https://www.agrolink.com.br/noticias/europa-reconhece-a-certificacao-para-sementes-de-cereais-e-forrageiras_425626.html?utm_source=boas-vindas-cadastro&utm_medium=email&utm_content=link-loginautomatico
- Grombone-Guaratini, M. T., Solferini, V. N., & Semir, J. (2004). Reproductive biology in species of *Bidens* L. (Asteraceae). *Scientia Agricola*, 61(2), 185-189.
- Groth, D. & Liberal**, (1988). *Catálogo de identificação de sementes* (Nº R SB115 G88).
- Groth, D.** (2001). Caracterização morfológica de sementes de espécies invasoras da família Convolvulaceae Juss. *Revista Brasileira de Sementes*, 23(2), 1-13.
- Hefler, Sonia Marisa, & Longhi-Wagner, Hilda Maria. (2008). Análise da morfologia do fruto em espécies de *Cyperus* L. subg. *Cyperus* - Cyperaceae. *Acta Botanica Brasilica*, 22(3), 637-651. Recuperado a partir de http://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2013/09/Anuario_ABRASEM_2016_SITE.pdf. doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-33062008000300005>
- Ibarra-Manríquez, G.; Martínez Ramos; M.; Oyama, K. (2001). Seedling functional types in a lowland rain forest in Mexico. *American Journal of Botany*, v. 88, n. 10, 1801-1812.
- International Seed Testing Association. (2018). ISTA Accreditation Standard for Seed Testing and Seed Sampling. Bassersdorf. Recuperado a partir de <https://www.seedtest.org/upload/cms/user/ISTAAccreditationStandardforSeedTestingandSeedSamplingV6.1.pdf>.
- Junior, P. S. C., Bieras, A. C., Soares, M. B. B., Chaves, T. H. D., Abdo, M. T. V. N., & Salazar, F. F. (2015b). Comunidade infestante em implantação de Canavial sobre espaçamento duplo. In *Anais, 3 Congresso Brasileiro de Fitossanidade* –

- CONBRAAF, Águas de Lindóia, SP, vol. 1, pp. 377-380. Recuperado a partir de <https://bit.ly/2ypPLjQ>. doi: 10.13140/RG.2.1.2371.7601
- Junior, P. S. C., Bieras, A. C., Soares, M. B. B., Rocha, L. A., Abdo, M. T. V. N., & Finoto, E. L. (2015a). Levantamento fitossociológico de plantas daninhas na implantação de um canavial em espaçamento reduzido. In: *Anais, 3 Congresso Brasileiro de Fitossanidade – CONBRAAF* (pp. 349-351). (Vol. 1). Águas de Lindóia, SP. Recuperado a partir de <https://bit.ly/3b0La4M>. doi: 10.13140/RG.2.1.4731.0561
- Kissmann, K. G., & Groth, D. (1997). Plantas infestantes e nocivas. (2nd ed.). São Paulo: BASF. Tomo I.
- Kissmann, K. G., & Groth, D. (1999). Plantas infestantes e nocivas. (2nd ed.). São Paulo: Basf. Tomo II.
- Kissmann, K.G., & Groth, D. (2000). Plantas infestantes e Nocivas. BASF, São Paulo, Brazil.
- Korkmaz, H., Mumcu, Ü., & Alkan, S. (2011). A new alien species record for the flora of Turkey: *Bidens bipinnata*(Asteraceae). *Biological Diversity and Conservation*, 4(2), 49-54.
- Laca-Buendia, J. P., & Maricondi, P. F. (2000). Eficácia do herbicida chlorimuron-ethyl no controle de *Melampodium perfoliatum* na cultura da soja. *Revista Brasileira de Herbicidas*, 1(1), 17-20.
- Leist, N & Jonitz, A (2009)Tools for seed identification identification. Recuperado a partir de https://www.seedtest.org/upload/cms/user/6ToolsforseedIdentification_NorbertKompatibilittsmodus.pdf
- Leitão Filho, H. F.; Aranha, C.; & Bacchi, O. (1972) Plantas infestantes de culturas do Estado de São Paulo (pp.5-291). São Paulo, HUCITEC.
- Linkedin, (2020) Francisco de Assis Pedroso Recuperado a partir de <https://www.linkedin.com/in/francisco-de-assis-pedroso-a62a3531/>
- Lorenzi, H. (2008). Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. (4a ed.). Nova Odessa: Plantarum.
- Lorenzi, H., Nicolai, M., Bianchi, M. A., Inoue, M. H., Correia, N. M., Christoffoleti, P. J., & Guimarães, S. C. (2014). Manual de identificação e controle de plantas daninhas. Nova Odessa: Plantarum.
- Lovey, R., Perisse, P., Molinelli, M. L., & Scandaliaris, M. (2007). Seed structure and dormancy of *Nicandra physalodes* (Solanaceae). *Seed Science and Technology*, 35(3), 560-568.
- Marques, Danilo, & Nakajima, Jimi Naoki. (2015). Heliantheae s.l. (Asteraceae) do Parque Estadual do Biribiri, Diamantina, Estado de Minas Gerais, Brasil. *Hoehnea*, 42(1), 41-58. doi: <https://doi.org/10.1590/2236-8906-15/2014>
- Mendes, K. F., Reis, R. M., dos Reis, M. R., da Silva, R. R., de Almeida, W. L., & Inoue, M. H. (2014). Dinâmica de plantas daninhas após aplicação de oxadiazon com

- simulação de lâminas d'água e incorporação de material orgânico. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 9(1), 65-71.
- Mondo, Vitor Henrique Vaz, Carvalho, Saul Jorge Pinto de, Dias, Ana Carolina Ribeiro, & Marcos Filho, Júlio. (2010). Efeitos da luz e temperatura na germinação de sementes de quatro espécies de plantas daninhas do gênero *Digitaria*. *Revista Brasileira de Sementes*, 32(1), 131-137. doi: <https://doi.org/10.1590/S0101-31222010000100015>
- Moreira, H. D. C., & Bragança, H. B. N. (2011). Manual de identificação de plantas infestantes. *FMC, SP*, 326.
- Netto, D., Mendes, M., Coelho, R., Ribeiro, P. D. A., & Marion, M. (2009). Acreditação de ensaios do Laboratório de Análise de Sementes da Embrapa Milho e Sorgo pela ISO/IEC 17025: 2005 e obtenção do Renasem. *Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico*.
- Pelissari A., Mendonça C.G., Lang C. R., Balbinot Junior., A.A. (2011). Avanços no controle de plantas daninhas no sistema de integração lavoura-pecuária. *Rev Syn Scy UTFPR*.
- Pereira, D. S., Sousa, R. M., Maracajá, P. B., Silveira, N., Sakamoto, S. M., & de Oliveira, A. M. (2011). Nectar production of *Merremia aegyptia* and behavior of *Apis mellifera* spp. during foraging. *Acta Veterinaria Brasilica*, 5(2), 168-177.
- REFLORA (2020). Flora do Brasil 2020 em construção. *Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. Recuperado a partir de <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/ConsultaPublicaUC.do#CondicaoTaxonCP>
- Rua, G. H. (2003). Growth forms, branching patterns, and inflorescence structure in *Digitaria* sect. *Trichachne* (Poaceae, Paniceae). *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 198(3), 178-187.
- Sánchez-Ken, JG (2012). Sinopse de *Digitaria* (Paniceae, Panicoideae, Poaceae) no México, incluindo a espécie *Digitaria michoacanensis*. *Acta botánica mexicana*, (101), p. 127-149.
- Silva, A. F. (2019, 24 setembro). Identificação espécie 360 [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por e-mail comprendreiasilva@epamig.br.
- Simões, A. R., & Staples, G. (2017). Dissolution of Convolvulaceae tribe Merremieae and a new classification of the constituent genera. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 183(4), 561-586.
- Singh A. K., Singh, A. K., & Srivastava, M. K. (2016). Taxonomy and seedling morphology of six species of *Digitaria* (Poaceae) from Vindhyan region, Uttar Pradesh, India. *International Journal of Advanced Research*, 4(8), 464-472.
- Singh, A. K., Singh, S., & Singh, S. (2007). Seedling morphology of *Chenopodium album* L. and *Chenopodium murale* (Chenopodiaceae) Department Botany.

- Souza, L. A. de; Iwazaki, M. C.; & Oliveira, R. C. de. (2004). Morfo-anatomia do fruto e da semente em desenvolvimento de *Asclepias curassavica* L. (Asclepiadaceae). *Insula*, (33), 39-49.
- Tavares-Silva, P., Lima, L. V., de Andrade, R. C., Cabral, A., De Paula, M. A., & Ferreira, F. M. (2018). Flora vascular exótica e daninha do Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. *Pesquisas, Botânica*, (71), 47-61.
- Trópicos (2020) Pesquisa de amostras Recuperado a partir de <http://legacy.tropicos.org/SpecimenSearch.aspx>
- Tutin, T.G. (1976). *Bidens* L. In (eds.) Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A. *Flora Europaea IV, Plantaginaceae to Compositae (and Rubiaceae)*. Cambridge Univ. Pres, Cambridge. 139-140.
- USDA. (2019). *Asclepias curassavica* L. [Website]. *Agricultural Research Service, National Plant Germplasm System. Germplasm Resources Information Network (GRIN-Taxonomy)*. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. Recuperado a partir de <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?id=4469>
- Vega, AS e De Agrasar, ZER (2005). Novidades taxonómicas e sinopses do gênero *Digitaria* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae) na Colômbia e Venezuela. *Darwiniana*, 232-267.
- Wildflower Center's (2020). *Bidens alba* Recuperado a partir de https://www.wildflower.org/plants/result.php?id_plant=BIAL