**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Padrão de expansão, características morfológicas e anatômicas e valor
nutritivo de lâminas foliares de capim-elefante cv. Napier**

Larissa Fernanda Garcia

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens

**Piracicaba
2018**

Larissa Fernanda Garcia
Zootecnista

Padrão de expansão, características morfológicas e anatômicas e valor nutritivo de lâminas foliares de capim-elefante cv. Napier

Orientador:
Prof. Dr. **SILA CARNEIRO DA SILVA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens

Piracicaba
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Garcia, Larissa Fernanda

Padrão de expansão, características morfológicas e anatômicas e valor nutritivo de lâminas foliares de capim-elefante cv. Napier / Larissa Fernanda Garcia. - - Piracicaba, 2018.

74 p.

Dissertação (Mestrado) - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Anatomia foliar 2. Morfologia foliar 3. Composição química 4. Padrão de crescimento 5. *Pennisetum purpureum* I. Título

Dedico

A minha mãe **Sonia Maria Jacques**, pelo amor,
apoio, companheirismo, exemplo de força
e amor incondicional.

Ofereço

Aos meus sobrinhos **Lucas Vinicius Garcia** e
Matheus Henrique Garcia, pelo amor e
alegria.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me permitir concluir essa etapa.

A minha família, em especial minha mãe, pelo amor, apoio e incentivo.

Ao meu orientador, professor Dr. Sila Carneiro da Silva, pela oportunidade, ensinamentos e exemplo de profissionalismo.

Aos membros do meu comitê de orientação Professor Dr. Carlos Guilherme Silveira Pedreira e professor Dr. André Fischer Sbrissia pelas considerações.

Aos professores do departamento de Zootecnia que contribuíram no meu treinamento.

Aos professores Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias, Dr. Gerson Barreto Mourão e a Dra. Marília Barbosa Chiavegato pelo suporte na análise estatística dos dados.

Ao professor Dr. Elliot Watanabe Kitajima por conceder o uso do Laboratório de Microscopia Eletrônica por Varredura (MEV) para realização das análises de anatomia foliar e ao técnico Renato Salaroli pelo suporte.

Ao ESALQLAB (laboratório de bromatologia) (Laerte Cassoli) pelo uso do laboratório para o preparo inicial das amostras para análise de anatomia foliar, em especial ao técnico Carlos César Alves e a analista Amanda Mezavila pelo suporte nas análises químicas e preparo das amostras para análise anatômica.

A Dra. Eliana Vera Geremia pela amizade, apoio, incentivo e por me ensinar a metodologia de análise de anatomia foliar para a realização desse estudo.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia Emerson Smania e Juscelino da Silva pela colaboração durante o período experimental e ajuda nos reparos da irrigação.

Aos integrantes do Grupo de Estudos em Plantas Forrageiras (GEPF) Eliana Geremia, Guilherme Portes e Lucas Carvalho e aos estagiários Erik Camargo (Óιαπα), Luiz Henrique Goulart (Morfina), Marcela Bruscagin (Çofrida) e Renata Rodrigues (Xopã) pela ajuda na implantação dos experimentos e durante o período experimental. Em especial, minha estagiária Laura Goulart (C-rpentina), por estar presente não só no campo, mas até o último dia no laboratório, eterna gratidão por sua colaboração e comprometimento!

Aos integrantes do Grupo de Pesquisa em Pastagens (GP²) Gabriel Pedroso, Patrícia Luizão e Solange Holschuch pela ajuda no replantio do experimento em plena véspera de ano novo!

Aos estagiários do período de férias (2017/1) do Centro de Treinamento (CT) do Departamento de Zootecnia Flávio Dal Ri (Mét-Braza), Lucas Alfredo e Larissa Lacerda pelo auxílio na manutenção dos experimentos.

Aos amigos Fernanda Ometto (Por-1), Giovani Mariano (Korta-Fora) e Mateus Souza (Moto-(s)²e(r)²a) pelo auxílio na montagem das lâminas histológicas quando a Laura não pôde estar presente.

Aos integrantes (antigos e atuais) do Laboratório de Plantas Forrageiras (LAPF) Caio Macret, Cristian Bosi, Eliana Geremia, Gabriel Pedroso, Juliana Assis, Lucas Rocha, Junior Yasuoka, Marcell Alonso, Marília Chiavegato, Marina Miquilini (Abaxa), Otávio Goulart, Paulo César Santos, Solange Holschuch, Valdson Silva e aos agregados Mariely Lopes, Sara Romeiro e Tibério Feitosa pela amizade, convívio e momentos de descontração. Em especial ao Fagner Gomes, Guilherme

Portes, Guillermo Congio e Patrícia Luizão pela amizade, conselhos, suporte e sugestões sempre válidas para a realização desse trabalho. Muito obrigada!

Aos amigos que fiz na ESALQ e em Piracicaba/SP que foram importantes nessa caminhada e contribuíram direta e indiretamente para a realização desse trabalho.

Ao Átila Carvalho pelo amor, companheirismo, apoio, compreensão e paciência na reta final.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que contribuíram de alguma maneira para realização desse trabalho.

Meus sinceros agradecimentos!

*“O que eu faço é uma gota no meio de um oceano.
Mas sem ela, o oceano será menor”.*

Madre Teresa de Calcutá

*“Se você quiser alguém em quem confiar,
confie em si mesmo.
Quem acredita sempre alcança!”*

Renato Russo

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	10
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1. O CAPIM-ELEFANTE	15
2.2. MORFOLOGIA E DESENVOLVIMENTO FOLIAR	16
2.3. ANATOMIA FOLIAR	18
2.4. VALOR NUTRITIVO	20
2.5. RELAÇÕES ENTRE MORFOLOGIA E ANATOMIA FOLIAR COM O VALOR NUTRITIVO EM GRAMÍNEAS FORRAGEIRAS	21
2.6. MODELO CONCEITUAL	25
2.7. HIPÓTESE	26
2.8. OBJETIVO	26
2.9. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1. MATERIAL	29
3.2. MÉTODOS	33
3.2.1. Produção de propágulos	33
3.2.2. Implantação e controle experimental – Experimento 1 (morfologia e anatomia foliar)	33
3.2.3. Avaliações – Experimento 1	37
3.2.4. Implantação e controle experimental – Experimento 2 (valor nutritivo).....	40
3.2.5. Avaliações – Experimento 2	43
3.2.6. Análise dos dados.	44
4. RESULTADOS.....	47
4.1. PADRÃO DE EXPANSÃO (MORFOLOGIA FOLIAR)	47
4.2. CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS.....	51
4.3. VALOR NUTRITIVO	54
4.4. RELAÇÕES ENTRE CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS, ANATÔMICAS E VALOR NUTRITIVO.....	55
4.4.1. Análise de componentes principais.....	55
4.4.2. Análise de agrupamento (Cluster).....	57
5. DISCUSSÃO.....	59
6. CONCLUSÃO	65
REFERÊNCIAS	67

RESUMO

Padrão de expansão, características morfológicas e anatômicas e valor nutritivo de lâminas foliares de capim-elefante cv. Napier

Dentre as estruturas que compõem os fitômeros das gramíneas, a folha tem grande importância, pois é a fonte primária de produção de fotoassimilados para a planta como um todo e também é o componente de maior valor nutritivo. Em gramíneas, o alongamento de folhas e, conseqüentemente da nervura central, ocorre de forma não proporcional, afetando a morfologia e a anatomia das lâminas foliares e interferindo em seu valor nutritivo. Com o intuito de avaliar a relação entre tamanho final do limbo foliar, proporção e espessura da nervura central (NC) e sua relação com as características anatômicas e o valor nutritivo (VN) em lâminas foliares de diferentes tamanhos e ordens de inserção, foram conduzidos dois experimentos concomitantes utilizando um protocolo de plantas isoladas desenvolvido especificamente para esta finalidade no verão de 2017 (janeiro a março). A espécie estudada foi o *Pennisetum purpureum* Schum. cv. Napier (capim-elefante). O objetivo do primeiro experimento foi caracterizar o padrão de expansão e a morfologia da lâmina foliar seccionada em 10 fragmentos de mesmo tamanho, e caracterizar a anatomia ao longo dos segmentos basal, mediano-basal, mediano, mediano-apical e apical, ambos em lâminas foliares de perfilhos basais de diferentes tamanhos e ordens de inserção (fitômeros 5 a 16) em função de sua programação ontogênica. As coletas de amostras tiveram início a partir da expansão da 5ª folha (fitômero 5) e foram encerradas quando a 16ª folha completou sua expansão (fitômero 16). Para avaliar o efeito da idade da folha sobre a deposição de tecidos de sustentação, foram coletadas todas as folhas de dois perfilhos (um para avaliações anatômicas e um para avaliações morfológicas) no momento da expansão da 16ª folha, seguindo os mesmos critérios de avaliação descritos anteriormente. As plantas foram distribuídas segundo um delineamento em blocos completos casualizados com quatro repetições. O objetivo do segundo experimento foi caracterizar a relação entre o padrão de expansão das folhas (proporção de nervura central) e seu valor nutritivo ao longo dos segmentos de folhas descritos acima, nas mesmas folhas. A amostragem foi realizada quando a 16ª folha concluiu seu desenvolvimento e expôs sua lígula. Foram cultivadas 1320 plantas, divididas em três blocos homogêneos com 440 plantas cada, de modo a proporcionar a quantidade mínima necessária de material seco e moído para análises de proteína bruta (PB) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS). As lâminas foliares apresentaram o mesmo padrão de expansão, apesar de diferentes valores de largura e comprimento final. A massa de nervura central variou linearmente com o aumento de massa da lâmina foliar, e apresentou redução em sua proporção da base para a porção apical da folha. Não houve variações significativas nas características anatômicas entre os segmentos das lâminas foliares quando a nervura central não foi considerada. Excluindo os segmentos em processo de senescência (fitômeros 5 a 7), as porções finais de folhas grandes apresentaram valor nutritivo semelhante àquele de folhas pequenas. As análises multivariadas de agrupamento (*Cluster*) e de componentes principais (PCA) agruparam e classificaram as folhas de acordo com seu nível de inserção no perfilho e aporte estrutural. As folhas mais longas foram caracterizadas como segue: 1- frações basais por altos valores de esclerênquima (ESC), massa seca da nervura (MSN), largura da nervura (LN) e mesofilo (MES) e baixos valores PB, área foliar específica (AFE), DIVMS e epiderme total (EpiT); 2- frações medianas com altos valores de feixes vasculares (FV), comprimento da folha (CF), comprimento do segmento (CS), massa seca do limbo (MSL), massa seca total (MST), largura do limbo (LL) e largura total (LT) e baixos valores de matéria mineral (MM); e 3- frações apicais (próximas ao ápice foliar) com altos valores de PB, AFE, DIVMS e EpiT e baixos valores de ESC, MSN, LN e MES. As folhas mais curtas, independentemente de suas porções ou segmentos, se caracterizaram por altos valores de DIVMS, MM, PB, EpiT e AFE e

baixos valores de FV, ESC, MES, MSN, CF, CS. Os resultados podem ser utilizados para desenvolver modelos de crescimento tridimensional das plantas com a capacidade de prever valor nutritivo e ingestão de nutrientes de animais em pastejo, bem como auxiliar no estabelecimento de metas de manejo do pastejo.

Palavras-chave: Anatomia foliar; Composição química; Morfologia foliar; Padrão de crescimento; *Pennisetum purpureum*

ABSTRACT

Expansion pattern, anatomical and morphological characteristics and nutritive value of leaves of elephantgrass cv. Napier

Among the structures comprising grass phytomers, the leaf is important because it is the primary source of assimilate for the entire plant and is also the component of greatest nutritive value. In grasses, leaf elongation, and consequently mid rib elongation, occurs in a non proportional way, affecting the morphology and the anatomy of the leaf blade and impacting its nutritive value. This study aimed at evaluating the relationship between final leaf blade length and the proportion and thickness of the mid rib, as well as their relation with anatomical characteristics and nutritive value along the blades of leaves with different sizes and levels of insertion on the tiller (leaf age – phytomers 5 to 16). Two concomitant experiments were carried out during summer of 2017 (January to April) using an isolated plant protocol specifically developed for this purpose. Elephantgrass (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Napier) was used as model plant. The objective of the first experiment was to characterize the pattern of leaf expansion and the morphology and anatomy of the leaf blade in sections along its length (basal, median-basal, median, median-apical, apical) using leaves of different sizes and levels of insertion (phytomers 5 to 16) on basal tillers according to their ontogenetic organization. Sampling started when the fifth leaf (phytomer 5) completed its expansion and ended when the 16th leaf (phytomer 16) completed its expansion. In order to evaluate the effect of leaf age on the synthesis of support tissues, all leaves from two tillers (one for anatomical and other for morphological evaluations) were harvested when the 16th leaf completed its expansion, following the same procedures described above for individual leaves. The experimental design was a randomized complete block, with four replications. The objective of the second experiment was to characterize the relationship between the pattern of leaf expansion (proportion of mid rib in leaf blade) and nutritive value along the length (basal, median-basal, median, median-apical, apical portions) using leaves of different sizes and levels of insertion (phytomers 5 to 16) on basal tillers. Sampling was done when the 16th leaf completed its expansion and exposed its ligule. A total of 1,320 plants were cultivated in three homogeneous blocks of 440 plants each, ensuring the minimum amount of dry, ground material for the chemical analyses of crude protein (CP) and in vitro dry matter digestibility (IVDMD). There was a common pattern of leaf expansion despite the different final leaf blade width and length. The weight of mid rib varied linearly in relation to the increase in leaf blade mass, and showed a decreasing gradient of proportion from the basal to the apical portion of the leaf. Anatomically, there were no significant changes in tissue proportions along the length of the leaf blade when the mid rib was not considered. Except for the senescing apical portion of older leaves (phytomers 5 – 7), the apical portion of large leaves showed similar nutritive value (IVDMD and CP) to that of small leaves. The multivariate analyses of Cluster and Principal Components grouped and stratified phytomers according to their level of insertion on the tiller and structural support, with longer leaves characterized as: 1- basal portions with high values of sclerenchyma (SCL), mid rib mass (MRM), mid rib width (MRW) and mesophyll (MES) and low values of CP, specific leaf area (SLA), IVDMD and total epidermis (EPIt); 2- median portions with high values of vascular bundles (VB), leaf blade length (LBL), portion length (PL), non-mid rib leaf blade mass (LBM), total leaf blade mass (TLBM), non mid rib leaf blade width (LBW) and total leaf blade width (TLBW) and low values of mineral matter (MM); and 3- apical portion with high values of CP, SLA, IVDMD and EPIt and low values of SCL, MRM, MRW and MES. Shorter leaves were characterized by high values of IVDMD, MM, CP, EPIt and SLA and low values of VB, SCL, MES, MRM, LBL and PL. The results can be

used for developing tridimensional plant growth models capable to estimate the nutritive value and nutrient intake by grazing animals, as well as to assist in establishing grazing management targets.

Keywords: Chemical composition; Growth pattern; Leaf anatomy; Leaf morphology;
Pennisetum purpureum

1. INTRODUÇÃO

Dentre as estruturas que compõem os fitômeros, a folha se destaca por ser o componente de maior valor nutritivo para alimentação animal. Seu desenvolvimento ocorre por meio dos primórdios foliares a partir do meristema apical, surgindo de forma alternada de cada lado do ápice do colmo (Langer, 1972), apresentando comprimento variado de acordo com seu nível de inserção no perfilho, sendo os maiores comprimentos corresponde às folhas de inserção intermediária (Gomide e Gomide, 1999). Morfologicamente, a lâmina foliar normalmente apresenta formato linear ou lanceolado, com nervuras paralelas características, sendo a principal a nervura central, que concede suporte estrutural adicional à lâmina foliar (Wilson, 1997). No entanto, tanto o formato da folha quanto a distribuição da nervura central apresentam desenvolvimento desproporcional em relação ao todo. Todavia, estudos relacionando esse crescimento desproporcional associado às características morfológicas, tais como comprimento e largura da lâmina foliar e o padrão de distribuição da nervura central ao longo da lâmina foliar são praticamente inexistentes, principalmente com plantas forrageiras. No entanto, identificar padrões de crescimento e expansão de folhas é importante, pois são informações que podem auxiliar a compor modelos matemáticos de desenvolvimento da arquitetura das plantas, bem como auxiliar no desenvolvimento de metas de manejo do pastejo de plantas forrageiras.

Com relação à composição anatômica, os tecidos da lâmina foliar são diferenciados em tecido condutor (feixes vasculares), representado pelas células do xilema e do floema; tecido de suporte ou de sustentação, representado pelo esclerênquima que, em folhas de gramíneas, está frequentemente associado ao tecido condutor; e em tecido assimilatório, representado pelas células do mesofilo (Paciullo, 2002). Estes tecidos são cobertos em ambos os lados da folha (abaxial e adaxial) pela epiderme que, por sua vez, pode ser coberta na face exterior pela cutícula. Quando as lâminas foliares encontram-se em um mesmo estágio de desenvolvimento, é possível observar um gradiente nos tecidos anatômicos de acordo com nível de inserção no perfilho, segundo o qual lâminas e bainhas foliares que se encontram mais próximas da porção apical dos perfilhos possuem maior proporção de esclerênquima e de tecido vascular relativamente àquelas posicionadas na porção basal (Paciullo et al., 2002). As lâminas foliares de mais alto nível de inserção, enquanto não ocorre o alongamento dos entrenós (elevação do meristema apical), são as lâminas foliares mais longas no perfilho. Dessa forma, podem conter mais esclerênquima e tecido vascular por consequência da maior necessidade de suporte estrutural para manter a conformação ereta da folha para interceptação de luz (Taiz e Zeiger, 2013). Segundo Rezvani Moghaddam e Wilman (1998) e Vincent (1991), as células do esclerênquima são importantes para dar suporte ao crescimento ereto das lâminas foliares juntamente com as de xilema, principalmente em ambientes quentes e secos. Esses tecidos são formados por células de parede secundária espessada e são os que mais contribuem para a baixa qualidade da forragem (Akin, 1989; Wilson, 1993). Dessa forma, como a nervura central contém, geralmente, maiores porcentagens de

tecido vascular e esclerênquima, apresenta digestibilidade consideravelmente menor do que o limbo foliar (Wheeler et al., 1984).

Correlações altamente significativas entre as características de valor nutritivo, morfologia e proporção de tecidos em lâminas foliares têm sido registradas (Batistoti et al., 2012; Paciullo et al., 2001; Queiroz et al., 2000). No entanto, estudos avaliando a influência da nervura central nesse processo são praticamente inexistentes.

Assim, por relacionar-se com o valor nutritivo da forragem (Paciullo et al., 2001), o estudo anatômico do tecido de lâminas foliares, associado às suas características morfológicas, pode ser ferramenta útil na discriminação de genótipos promissores em termos qualitativos nas fases iniciais de avaliação de novos materiais forrageiros (Gomes et al., 2011). Pode também auxiliar na identificação dos fatores que limitam seu consumo (Lucena et al., 2017) e os resultados utilizados para desenvolver modelos de crescimento tridimensional de plantas como ferramenta para prever o valor nutritivo e a ingestão de nutrientes de animais em pastejo.

O capim-elefante cv. Napier (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Napier) vem sendo alvo de estudos de manejo do pastejo e de avaliação de programação ontogênica pelo Grupo de Estudo com Plantas Forrageiras da ESALQ (GEPP), e possui amplo banco de dados relativo às respostas morfofisiológicas tanto crescendo em comunidade (Pereira et al., 2013b, 2013a, 2014) quanto de forma isolada, em vasos (Silva, 2018). Por essa razão foi escolhida como planta modelo para a realização deste estudo.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a relação entre tamanho final do limbo foliar, proporção da nervura central e sua relação com as características anatômicas e composição química (valor nutritivo) ao longo das lâminas foliares de diferentes tamanhos e ordens de inserção (fitômeros de 5 a 16) em perfilhos basais de capim-elefante cv. Napier crescendo de forma isolada.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O capim-elefante

O capim-elefante, originário da África, foi descoberto e divulgado como planta forrageira pelo coronel Napier em 1905, sendo introduzido inicialmente nos Estados Unidos pelo Departamento de Agricultura em 1913 e no Brasil em 1920 por meio de mudas provenientes de Cuba (Granato, 1924; Jauhar, 1981). Essa planta forrageira pertence à família *Poaceae*, subfamília *Panicoideae*, tribo *Paniceae*, gênero *Pennisetum* e seção *Penicillaria*. Apresenta características morfológicas com amplas variações fenotípicas entre os cultivares. As principais são: ciclo vegetativo perene; crescimento cespitoso, colmos eretos, cilíndricos, glabros e cheios, altura variando de 3,5 a 6,0 m, entrenós de 15 a 20 cm e diâmetro de até 2,5 cm; raízes grossas e rizomatosas. As folhas atingem até 1,25 m de comprimento e 4,0 cm de largura, com nervura central larga e de cor mais clara; disposição alternada, bainha lanosa, fina, estriada; e lígula curta e ciliada. As inflorescências são classificadas como panículas espiciformes (Pereira et al., 2010).

Tendo em vista a grande diversidade que possui, o capim-elefante está separado em cinco grupos bem definidos: Cameroon, Napier, Mercker, Anão e híbridos interespecíficos. O cultivar Napier (*Pennisetum purpureum* Schumach cv. Napier) foi o primeiro a ser introduzido no Brasil, com maior área plantada relativamente aos demais. Apresenta touceiras em formato semiereto, chegando a uma altura de até 5 m; os colmos têm diâmetro mediano e as folhas apresentam pêlos apenas na face superior (Pereira et al., 2010).

O capim-elefante é exigente em termos de fertilidade de solo, desenvolve-se melhor em solos de média a alta fertilidade. No tocante às condições edafoclimáticas, é muito sensível ao frio e não tolera temperaturas abaixo de 15°C, desenvolvendo-se bem em uma faixa de temperatura considerada ótima entre 25 e 40°C. Pode ser cultivado em altitudes variando desde o nível do mar até 2.000 m, em regiões com precipitação pluviométrica de 1.500 mm por ano e não tolera solos úmidos (Vilela, 2005). O plantio é feito por meio de mudas, a uma profundidade de 0,15 a 0,20 m e espaçamento entre linhas de 1,0 m se a finalidade for corte para produção de forragem ou de 0,5 m se a finalidade for para pastejo (Vilela, 2005). É cultivado em quase todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo em razão de seu elevado potencial de produção de massa seca, valor nutritivo, vigor e persistência. Dessa forma é considerado uma das mais importantes plantas forrageiras, apresentando registros de produção de até 37 toneladas de massa seca por hectare por ano (Pereira et al., 2010).

De acordo com Pereira et al. (2010), a forma mais comum de sua utilização é como capineira para corte e fornecimento da forragem verde picada, pois apresenta maior aproveitamento da forragem disponível, sendo importante fonte de suplementação volumosa no período da seca (Cóser et al., 1999;

Pereira et al., 2010). Sob pastejo, pode gerar forragem de elevado valor nutritivo, assegurando condições para elevadas taxas de lotação, produção e produtividade animal (Geremia et al., 2014) com reduzido impacto ambiental (Congio et al., 2018).

2.2. Morfologia e desenvolvimento foliar

Em gramíneas forrageiras o crescimento de um perfilho depende da contínua formação de fitômeros (folha (bainha e lâmina), nó, entrenó e gema axilar) (Fick e Clark, 1998; Moore e Moser, 1995) diferenciados a partir de um meristema apical comum (Langer, 1972). Esse arranjo hierárquico de subunidades segue um padrão de crescimento entre os estágios de primórdio e maturação e senescência foliar (McMaster, 2005). Contudo, o crescimento e/ou desenvolvimento de fitômeros individuais não ocorre de forma independente dos demais fitômeros e, portanto, todos precisam ser considerados de forma coletiva como uma unidade de desenvolvimento da parte aérea (perfilho) (Lemaire e Chapman, 1996). Nesse sentido, o desenvolvimento morfológico de uma planta consiste em uma sequência de eventos interativos dentro de ou entre fitômeros interligados (Duru e Ducrocq, 2000; Nelson, 2000), de forma que a arquitetura de um perfilho é determinada pelo tamanho, número e arranjo espacial de seus fitômeros (Briske e Richards, 1996).

Dentre as estruturas que compõem os fitômeros, a folha tem grande importância, pois é fonte primária de produção de fotoassimilados para a planta como um todo e também é o componente de maior valor nutritivo para a alimentação animal. A formação de folhas ocorre no meristema apical por meio do desenvolvimento dos primórdios foliares, os quais surgem alternadamente de cada lado do ápice do colmo (Langer, 1972). O desenvolvimento do primórdio foliar é um processo altamente regulado, envolvendo diferenciação, divisão e expansão de vários tipos de células diferentes (Pyke et al., 1991; Steeves e Sussex, 1989).

Durante os estádios iniciais de alongamento de uma folha somente a lâmina foliar cresce ativamente. Assim, o início da expansão da bainha ocorre somente quando a lâmina foliar está próxima de atingir seu tamanho final, e continua até a exposição da lígula (Langer, 1972). Existem no perfilho quatro tipos de folhas que apresentam características próprias durante o seu ciclo de vida: (1) folhas em expansão, que estão envolvidas pelo pseudocolmo (crescimento); (2) folhas emergentes, que apresentam lâminas visíveis; (3) folhas completamente expandidas, em uma fase de máximo desempenho fotossintético (maturidade); e (4) folhas senescentes (Gomide, 1997). Nestas, a parte mais velha fica no ápice e a mais jovem na base, ou seja, próximo à região meristemática de expansão foliar (maturação basipétala). Parte do período de crescimento pode acontecer no interior das bainhas de outras folhas até que possa ser visível. O ciclo de vida de folhas sucessivas em um perfilho está intimamente relacionado, uma vez que o aparecimento de uma nova folha, a cessação do crescimento

da folha anterior e a senescência de uma folha madura acontecem mais ou menos ao mesmo tempo (Silva, 2018). Isto define um número mais ou menos constante de folhas em um perfilho (Hodgson, 1990).

As primeiras folhas emergem de um pseudocolmo curto, com uma rápida emergência e pequeno comprimento (Pedreira et al., 2001). As folhas subsequentes percorrem um percurso mais longo para emergir e alcançam comprimentos maiores (Skinner e Nelson, 1995). Em seguida, durante o desenvolvimento do perfilho, ocorre o processo de alongamento do colmo e elevação do meristema apical, o que também reduz o percurso para a emergência das folhas de mais alto nível de inserção. Logo, o comprimento das folhas varia em função de seu nível de inserção no perfilho, ou seja, o perfilho é composto por folhas de diferentes tamanhos, com os maiores comprimentos correspondendo às folhas de inserção intermediária (Gomide e Gomide, 1999). Quando a planta forrageira entra em estágio reprodutivo e dá início à formação da inflorescência, cessa o aparecimento de novas folhas.

A lâmina foliar de gramíneas, normalmente, apresenta formato linear ou lanceolado, com nervuras paralelas características (geralmente paralelinérveas), estreita em relação ao seu comprimento, alongada, laminada e achatada (Gibson, 2009). Gramíneas de clima tropical geralmente apresentam suporte estrutural adicional fornecido pela nervura central da lâmina foliar (Wilson, 1997). A nervura central é a principal nervura das folhas e, apesar de sua participação ser relativamente pequena (6 a 13% da área da seção transversal), pode compreender de 18 a 28% do peso da lâmina foliar (Wheeler et al., 1984; Wilson, 1993). No entanto, tanto o formato da folha quanto a distribuição da nervura central guardam relações alométricas de crescimento, ou seja, o desenvolvimento é desproporcional com relação ao todo. A nervura central ocorre em maior proporção na base relativamente ao ápice foliar. Segundo Sack e Scoffoni (2013), nas folhas de angiospermas, a nervura central, denominada de veia de primeira ordem, diminui de diâmetro ao longo de seu comprimento. O afilamento da veia também fornece suporte mecânico econômico, porque a carga é suportada na base do colmo e no meio da nervura, funcionando como uma viga (Niklas, 1999). Moulia e Fournier (1997) relataram que a redução gradual da espessura da nervura pode também permitir uma função biomecânica especializada. Por exemplo, em folhas longas, o afilamento da nervura central contribui para a flexão da lâmina de tal forma que o centro da folha fica de frente para a luz solar, favorecendo a interceptação luminosa.

Todavia, estudos relacionando o padrão de expansão foliar às características morfológicas das folhas tais como comprimento e largura da lâmina foliar e o gradiente de distribuição da nervura central são praticamente inexistentes, principalmente com plantas forrageiras. Essas informações são importantes, pois podem auxiliar no desenvolvimento de modelos matemáticos que descrevem a formação da arquitetura das plantas e do dossel forrageiro, bem como auxiliar no desenvolvimento de metas de manejo do pastejo.

2.3. Anatomia foliar

A folha compreende três sistemas de tecidos: (1) o dérmico, que constitui a epiderme e reveste toda a superfície foliar; (2) o fundamental, que é o mesofilo da lâmina foliar e o córtex da nervura mediana; e (3) o vascular, que abrange os tecidos vasculares das nervuras (Menezes et al., 2003). Os tecidos que compõem as lâminas foliares de gramíneas C₃ (de clima temperado) são as epidermes adaxial e abaxial, mesofilo, tecido vascular e esclerênquima, e as de gramíneas C₄ (de clima tropical) ainda apresentam as células bainha de mestoma e parenquimática dos feixes vasculares bem desenvolvidas (Lempp, 2013).

A epiderme é formada por uma camada compacta de células que reveste todo o corpo das plantas e que pode conter vários tipos de substâncias como taninos, mucilagem, cristais e pigmentos (Alquini et al., 2003). São células vivas, vacuoladas, com função de restringir a perda de água pela planta e, por isso, não apresentam espaços intercelulares (Esau, 1977). Na face adaxial¹, a epiderme cobre toda a parte superior da lâmina foliar e contém as células buliformes que são responsáveis por regular o turgimento² da folha. Na epiderme da face abaxial³, estão os cloroplastos. Ambas são passíveis de espessamento da parede celular por meio do aumento da quantidade de lignina, sílica, cera e cutina, sendo a espessura variável com a maturidade e parte da planta (Lempp, 2013). O tecido epidérmico, ainda, pode apresentar vários tipos de células exercendo funções distintas na planta, i.e. células-guarda dos estômatos, silicosas, suberosas, buliformes, além de apresentarem tricomas.

O tecido vascular compreende as células do floema, xilema e fibras associadas. Exerce função estrutural nas lâminas e são responsáveis pelo transporte de água e solutos dissolvidos na corrente transpiratória. Apresenta também função de absorver e translocar os produtos da fotossíntese para outras partes da planta, funcionando como dreno morfológico (Lempp, 2013). As células do floema possuem somente parede celular primária, que são células delgadas, ricas em conteúdo celular e, portanto, não são passíveis de lignificação, representando geralmente menos de 1% da seção transversal tanto das folhas de gramíneas C₃ como C₄ (Harbers et al., 1981; Wilson, 1993). As células do xilema e das fibras apresentam parede celular secundária destituídas de conteúdo celular e consequente biossíntese de lignina, exercendo importante função estrutural nas folhas (Akin, 1989; Lempp, 2013).

O mesofilo compreende o parênquima clorofiliano homogêneo sendo paliádico ou paliádico-esponjoso, e é formado por células de parede delgada não lignificada, incluindo todos os

¹ Epiderme localizada na face superior ou ventral da lâmina foliar.

² Pressão exercida nas membranas celulares no decorrer da osmose.

³ Epiderme localizada na face inferior ou dorsal da lâmina foliar.

tecidos situados entre a epiderme e o sistema vascular da folha (Hanna et al., 1973; Lempp, 2013). O parênquima paliçádico geralmente predomina no mesofilo de espécies C_4 e é constituído por um ou mais estratos celulares com poucos espaços intercelulares (3-12% na seção transversal), uma vez que as células apresentam-se em arranjos bem compactos. Nas espécies C_3 o parênquima paliçádico associa-se ao lacunoso (esponjoso) e este apresenta as células de formato irregular, delimitando espaços intercelulares com amplitude variável (10-35% na seção transversal). As células do mesofilo apresentam somente parede celular primária, com espessura de 0,1 a 0,2 μm , e não são lignificáveis (Cheng et al., 1980). Sua proporção nas lâminas foliares é variável entre as espécies e cultivares de plantas C_4 , sendo geralmente inferior a 45%. Nas gramíneas C_3 representa cerca de 60% (Lempp, 2013). Nas gramíneas tropicais se dispõem de maneira radiada em torno da bainha parenquimática dos feixes (BPF), constituindo uma coroa, de onde se originou o nome de “anatomia de *kranz*” (*kranz* em alemão = coroa) (Menezes et al., 2003).

A bainha parenquimática dos feixes constitui um grupo de células especializadas, ricas em cloroplastos, envolvidas no processo assimilatório e que circunda os feixes vasculares em espécies C_4 (anatomia *Kranz*). Uma bainha de células também circunda os feixes vasculares em espécies C_3 ; entretanto, é pouco desenvolvida, desprovida de cloroplastos e facilmente digerida pelos microrganismos do rúmen (Wilson, 1993). Suas células apresentam diâmetro de 100 μm e parede celular com 0,5 a 1,0 μm de espessura, passíveis de lignificação (Akin e Burdick, 1975; Wilson e Mertens, 1995). Segundo Lempp (2013), as células da bainha parenquimática dos feixes apresentam síntese de parede celular secundária. Nas lâminas ainda em expansão (folhas jovens), a parede dessas células possui espessura similar às células do mesofilo (em média de 0,15 μm). Porém, nas lâminas com lígula exposta (completamente expandidas), a espessura ultrapassa 1,4 μm .

O esclerênquima é formado por células que desenvolvem grossa parede celular, que se tornam progressivamente lignificadas. Em gramíneas, a parede secundária varia de 2 a 5 μm de espessura (Wilson, 1993) e estão localizados acima e abaixo dos feixes vasculares. Nas nervuras maiores de plantas C_4 sempre ocorre a estrutura *girder* I, estrutura formada por um bloco de células de esclerênquima entre as células da epiderme (adaxial e abaxial) e as da bainha parenquimática dos feixes. Na *girder* T as células de esclerênquima encontram-se associadas geralmente à epiderme abaxial. A estrutura *girder* é característica de espécies C_4 , pois estas apresentam as células da bainha parenquimática dos feixes bem desenvolvidas em relação às gramíneas C_3 (Black, 1971). Segundo Rezvani Moghaddam e Wilman (1998) Vincent, (1991), as células de esclerênquima são importantes para suportar o crescimento das lâminas foliares eretas, juntamente com as de xilema, principalmente em ambientes quentes e secos.

No mesmo perfilho, as características anatômicas mostram um gradiente de variação de acordo com o nível de inserção dos fitômeros nos perfilhos quando se comparam folhas em um mesmo estágio de desenvolvimento (Paciullo et al., 2002; Rodella et al., 1984). As lâminas e bainhas foliares

que se encontram mais próximas da porção apical dos perfilhos possuem maior proporção de esclerênquima e de tecido vascular, menor proporção de células mesofílicas e a parede celular e as cutículas são geralmente mais grossas relativamente àquelas posicionadas na porção basal (Paciullo et al., 2002). Segundo o autor, essas diferenças são devidas ao maior número e tamanho dos feixes vasculares das folhas do ápice.

De maneira geral, o tamanho da lâmina foliar parece guardar relação positiva com as porcentagens de esclerênquima, tecido vascular lignificado e bainha parenquimática dos feixes (Queiroz et al., 2000; Wilson, 1976a). O fato ocorre possivelmente em razão do tamanho do limbo foliar, uma vez que folhas de maior tamanho necessitam de forte suporte estrutural para manter sua conformação ereta, sendo este suporte formado, principalmente, pelo tecido vascular (xilema) e pelo esclerênquima, os quais estão presentes na nervura central das lâminas foliares (Wilson, 1997) e nos vasos paralelos à nervura central (menor proporção). Provavelmente, esta seja a explicação para o gradiente anatômico foliar normalmente observado.

2.4. Valor nutritivo

A qualidade da planta forrageira pode ser classificada como uma função da interação do valor nutritivo (composição química $\times$ digestibilidade) com o consumo (Mott e Moore, 1969, citados por Reid, 1994), ou ainda do produto entre a digestibilidade da matéria seca, o consumo e a eficiência de utilização dos nutrientes digeridos. Já a ingestão de nutrientes é determinada pelo consumo de forragem e pela concentração destes no alimento (valor nutritivo) (Hodgson, 1990). Segundo Mertens (1994), 60 a 90% das variações em desempenho são explicadas pelo consumo e 10 a 40% pelas variações correspondentes em digestibilidade.

O valor nutritivo das plantas forrageiras tem sido avaliado por meio da composição química da forragem (determinação das porcentagens de proteína bruta; fibra em detergente neutro; fibra em detergente ácido e lignina) e da digestibilidade *in vitro* da matéria seca (Cano et al., 2004). A composição química das plantas resulta da distribuição das fontes fotossintéticas nos vários tecidos vegetais. É dependente da disponibilidade do conteúdo celular distribuído na parte aérea da planta e da estrutura de parede celular que tem a sua disponibilidade relacionada ao grau de lignificação (Van Soest, 1994). A digestibilidade é importante característica associada ao valor nutritivo (Buxton e Fales, 1994; Poppi et al., 1987) sendo crucial nos programas de melhoramento da qualidade de plantas forrageiras. Segundo Hodgson (1990), a concentração de energia metabolizável é fortemente relacionada com a digestibilidade da matéria orgânica, sendo que a digestibilidade tem importante influência sobre o consumo de forragem pelos animais. Lyons et al. (1999) relataram que os estudos envolvendo as mais variadas espécies forrageiras têm consistentemente demonstrado aumentos de

consumo com incrementos na digestibilidade da forragem de 40 a 80%. Entretanto, com a diminuição do valor nutritivo da forragem, a demanda maior por nutrientes implica em necessidade de aumento proporcional de consumo. Porém, o requerimento pode não ser satisfeito em função do baixo potencial de consumo de forragens de baixo valor nutritivo (enchimento ruminal e saciedade física).

Ao se avaliar os alimentos, assume-se que os mesmos são variáveis em sua composição e as respostas do animal refletem essas variações (Van Soest, 1994). Todavia, existem diferenças entre as frações que compõem a estrutura da planta. Segundo Minson (1990) e Van Soest (1994), as folhas das plantas forrageiras apresentam maior teor de proteína bruta e menores teores de fibra e de lignina do que colmos. Segundo Van Soest (1994), a análise química pode não fornecer uma estimativa direta do valor nutritivo de uma forragem, mas pode estabelecer relações estatísticas para se determinar a digestibilidade e o consumo. A utilização dessas relações é de grande importância para se prever o desempenho animal a partir da análise dos teores de fibra, proteína, lignina e de outros componentes da planta forrageira. Além disso, o conhecimento do valor nutritivo das forragens reveste-se de importância acentuada, seja para permitir adequada suplementação de dietas à base de volumosos ou para orientar o manejo das plantas forrageiras visando seu melhor aproveitamento pelos ruminantes (Paciullo et al., 2001).

2.5. Relações entre morfologia e anatomia foliar com o valor nutritivo em gramíneas forrageiras

De maneira geral, a estrutura física e a composição química de cada tecido estão diretamente relacionadas à sua função na planta. Dessa forma, tecidos relacionados com a sustentação da planta (xilema e esclerênquima) presentes principalmente na nervura central possuem células densamente agrupadas, com paredes espessadas e lignificadas. Já os tecidos relacionados com o processo de assimilação, como o mesófilo, são ricos em cloroplastos e apresentam células com parede delgada e sem lignina (Paciullo, 2002). Contudo, a presença de barreiras químicas na parede celular (e.g. compostos fenólicos de baixo peso molecular), tal como presente na bainha parenquimática dos feixes vasculares e epiderme, evita a degradação de fibras nesses tecidos. Além disso, efeitos do ambiente como o aumento da temperatura e da maturidade das plantas podem aumentar sítios de lignina (Akin, 1989). Dessa forma, os tecidos podem apresentar diferentes extensões e taxas de degradação.

Estudos avaliando a associação entre a proporção de tecidos de lâminas foliares e o valor nutritivo de gramíneas forrageiras foram iniciados na década de 1970 (Akin et al., 1973; Hanna et al., 1973), sendo que no Brasil o processo foi mais recente, a partir da década de 1990 (Brito et al., 1999; Lempp et al., 1997, 1998). Esses estudos complementam os fatores que interferem na qualidade das plantas forrageiras, pois nem sempre a análise química, a digestibilidade e a estrutura do dossel

forrageiro explicam todas as variações observadas no consumo de forragem (Basso e Barbero, 2015; Lempp, 2007).

Akin (1989) classificou a digestibilidade dos diferentes tecidos foliares em gramíneas C_4 como sendo: rapidamente digestíveis (mesofilo e floema); lenta e parcialmente digestíveis (epiderme e células da bainha do feixe vascular); e indigestíveis (xilema e esclerênquima). Para que os tecidos sejam digeridos após sua chegada no rúmen é necessário que os diferentes tipos de microrganismos colonizem as partículas do alimento. A maior rota de invasão parece ser via lesão da epiderme. Brito e Deschamps (2001) observaram que os estômatos presentes na epiderme de bainhas e lâminas foram utilizados pelos microrganismos como via de acesso aos tecidos mais internos.

As células do mesofilo e do floema possuem apenas uma parede primária delgada e não lignificadas, sendo, portanto, facilmente fragmentadas em partículas pequenas no rúmen, com rápida e completa digestão normalmente após 12 a 24 horas de incubação (Akin et al., 1983; Akin e Burdick, 1975; Lempp, 2007), sendo os primeiros tecidos a sofrerem digestão (Hanna et al., 1973). As células do floema, localizadas no tecido vascular, podem apresentar, em espécies C_4 , compostos fenólicos que interferem negativamente na degradabilidade, mas por representarem apenas 2% da seção transversal da lâmina foliar não chegam a comprometer a digestibilidade da forragem (Lempp, 2007).

Já o tecido epidérmico apresenta parede espessa, com uma camada de cutícula que pode ser influenciada pelo ambiente. Por conter sílica, a cutícula confere rigidez e impede a digestão (Harbers et al., 1981). No entanto, a epiderme exerce papel importante ao conferir proteção física à planta contra patógenos, bactérias e fungos assim como restringem a perda de água por evaporação (Jenks et al., 1994).

A digestibilidade da bainha parenquimática dos feixes vasculares varia consideravelmente entre os grupos de plantas C_3 e C_4 e entre espécies do grupo C_4 . Essas células possuem baixa digestão devido ao espessamento da parede celular secundária, fato que, associado à alta proporção desse tecido nas espécies C_4 , interfere na taxa de degradação e reduz a digestão da matéria seca (Akin et al., 1983). A taxa de digestão das células do mesofilo condiciona o acesso dos microrganismos às células da bainha parenquimática dos feixes vasculares, uma vez que estas estão envolvidas pelo mesofilo. No entanto, do ponto de vista nutricional, as células da bainha parenquimática são importantes por apresentarem em seu conteúdo celular aproximadamente 50% da proteína foliar e alta proporção de amido. Todavia, em decorrência da elevada espessura de suas paredes, essas células apresentam, em geral, baixa taxa de digestão (Paciullo et al., 2002). Para a bainha parenquimática dos feixes vasculares e a epiderme, a digestão é parcial após período de incubação entre 24 e 48 horas (Wilson, 1993), porém, o desaparecimento total das células da epiderme ocorre após incubação por 24 h (Akin, 1989).

As células de esclerênquima além de serem indigestíveis, por estarem localizadas entre as células da epiderme e as da bainha parenquimática dos feixes, podem formar uma estrutura denominada estrutura *girder*, sendo *girder* I quando ligada com a epiderme adaxial e abaxial, e *girder* T quando presentes na epiderme adaxial ou abaxial (Wilson et al., 1989a). A estrutura *girder* pode interferir na taxa de degradação dos tecidos (Paciullo et al., 2002; Wilson et al., 1989a) assim como permanecer aparentemente intacta após longo período de incubação em líquido ruminal (Wilson, 1993).

A organização estrutural da planta ou anatomia dos órgãos e tecidos influencia o valor nutritivo em razão do efeito sobre a composição química da forragem, a facilidade de apreensão do material, a fragmentação de partículas durante os processos de mastigação e ruminação e, conseqüentemente, a taxa de passagem e aproveitamento da energia e proteínas digestivas pelos ruminantes (Wilson, 1997). Lâminas foliares em um mesmo estágio de desenvolvimento apresentam gradiente nas características anatômicas e nutricionais de acordo com seu nível de inserção no perfilho (Paciullo et al., 2002; Rodella et al., 1984; Wilson, 1976a). Nas lâminas e bainhas foliares de mais alto nível de inserção, estão presentes maiores proporções de esclerênquima e feixes vasculares, as paredes celulares e cutículas são mais espessas e há menor proporção de mesofilo, bainha parenquimática dos feixes e epiderme. Segundo Wilson, (1976) a maior proporção de feixes vasculares em lâminas foliares de mais alto nível de inserção é atribuída ao maior número e tamanho dos feixes. Com relação à composição química, apresentam maiores teores de fibra em detergente neutro e menores de proteína, tornando-se menos digestíveis que folhas de mais baixos níveis de inserção (Wilson, 1976a), visto que as lâminas foliares do topo do perfilho são mais longas (Queiroz et al., 2000) e necessitam de forte suporte estrutural para manter sua conformação ereta, o qual é conferido, principalmente, pelos feixes vasculares e pelo esclerênquima associado, presentes em maior proporção na nervura central. Em muitas gramíneas de clima tropical suporte estrutural adicional é fornecido pela nervura central da lâmina foliar (Wilson, 1997), que, apesar de participar com apenas 6 a 13% da área da seção transversal, pode compreender de 18 a 28% do peso da folha e conter de 14 a 24% dos tecidos lignificados (Wilson, 1993). Em geral, a nervura central apresenta digestibilidade menor que o limbo foliar (Wheeler et al., 1984) e sua participação na estrutura da lâmina foliar parece ser fator determinante da digestibilidade, embora a maioria dos trabalhos não avalie esse tipo de associação.

À medida que a planta avança em seu estágio de desenvolvimento, a quantidade e valor nutritivo da forragem sofrem alterações gradativas. Dessa forma, o estágio de desenvolvimento é importante fator a influenciar o valor nutritivo da planta forrageira (Paciullo et al., 2002), pois a degradação dos tecidos presentes nas diferentes estruturas diminuiu com a idade da planta. Segundo Reis et al. (2005), com o avanço do estágio fenológico ocorre aumento da porcentagem de celulose, hemicelulose e lignina, reduzindo, dessa forma, a quantidade de nutrientes potencialmente digestíveis (carboidratos solúveis, proteínas, minerais e vitaminas). Ocorre também o espessamento e lignificação

das paredes celulares, principalmente nas regiões dos feixes vasculares, com consequente redução nas áreas de digestão dos tecidos (Hanna et al., 1973). Brito e Deschamps (2001) após trabalharem com três cultivares de capim-elefante, registraram que a área ocupada pelo tecido epidérmico no limbo foliar foi reduzida com o incremento do estágio de maturação das folhas e a área de tecido vascular lignificado aumentou com a idade dos tecidos, especialmente no colmo.

No entanto, o declínio no valor nutritivo de lâminas e bainhas foliares não pode ser atribuído a variações na proporção de seus tecidos, uma vez que a contribuição relativa de cada tecido na folha não se altera com a idade (Akin e Burdick, 1975; Cherney e Marten, 1982; Paciullo et al., 2002; Wilson, 1976b). Nesse caso, o incremento nos constituintes da parede celular (MacAdam et al., 1996) e as alterações na composição química da parede celular, como aumento das concentrações de xilose, de lignina e de ácidos fenólicos (MacAdam et al., 1996; Titgemeyer et al., 1996), principalmente no xilema e no esclerênquima, explicam o decréscimo no valor nutritivo das folhas com a idade.

Correlações altamente significativas entre as características de valor nutritivo e a proporção de tecidos anatômicos em lâminas foliares têm sido registradas (Batistoti et al., 2012; Paciullo et al., 2001; Queiroz et al., 2000). De maneira geral, a proporção de mesofilo relaciona-se positivamente com a digestibilidade e negativamente com o teor de parede celular. As proporções de bainha parenquimática dos feixes, tecido vascular e esclerênquima, ao contrário, relacionam-se negativamente com a digestibilidade e positivamente com o teor de parede celular (Queiroz et al., 2000). (Batistoti et al., 2012) observou, em acessos de *P. maximum*, correlações lineares positivas entre a proporção da bainha parenquimática dos feixes nos cortes transversais e os teores de fibra em detergente neutro, lignina e celulose. Paciullo et al. (2001) verificaram que as espessuras da parede celular do esclerênquima e do metaxilema apresentaram correlação negativa com a digestibilidade, e concluíram que as estimativas das proporções de mesofilo, xilema e esclerênquima com a espessura da parede celular podem ser combinadas com a composição química para melhorar a estimativa do valor nutritivo da forragem. (Queiroz et al., 2000) registraram que em lâminas foliares de capim-setária, capim-jaraguá e capim-elefante cv. Mott a bainha parenquimática dos feixes, esclerênquima e o tecido vascular lignificado proporcionaram correlações altamente significativas e positivas com os teores de FDN, FDA e lignina e negativas com os teores de proteína bruta, relatando que esses tecidos apresentaram parede celular espessada, lignificada, e estavam frequentemente associados à fração lentamente digestível e ao teor de fibra da planta forrageira. Nesse mesmo estudo, os autores também registraram correlação significativa negativa entre os teores de FDN e a proporção de mesofilo, mas não com a digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

Além das diferenças em digestibilidade relacionadas aos tecidos anatômicos, as variações em digestibilidade têm sido associadas às características morfológicas como comprimento e largura da lâmina foliar, área foliar e área foliar específica, apresentando assim forte correlação com as

características químicas e anatômicas (Batistoti et al., 2012). Ao trabalharem com lâminas foliares de *Festuca arundinacea* L., MacAdam e Mayland (2003) relataram a seletividade animal associada às folhas, o que permite que a utilização dessa característica para seleção de genótipos. Masaoka et al. (1991), ao selecionarem características para valor nutritivo em seis genótipos de *Digitaria milaniana*, observaram que o comprimento da lâmina foliar foi correlacionado negativamente com a digestibilidade. Wilson et al. (1989b) estudando genótipos de *Cenchrus ciliaris*, relataram que as folhas mais pesadas e com alta razão foliar (g/cm^2) estavam associadas a maiores proporções de bainha parenquimática dos feixes, tecidos vasculares e esclerênquima.

Assim, o estudo anatômico de lâminas foliares, por relacionar-se com o potencial nutritivo das plantas forrageiras (Paciullo et al., 2001), associado às características morfológicas, pode ser ferramenta útil na discriminação de genótipos mais promissores em termos qualitativos nas fases iniciais dos processos de avaliação de novos materiais forrageiros (Gomes et al., 2011), bem como auxiliar na identificação de fatores que possam limitar seu consumo pelos ruminantes e, consequentemente, nos sistemas de produção animal (Lucena et al., 2017).

2.6. Modelo conceitual

Com base no exposto, um modelo conceitual foi elaborado (Figura 1) buscando integrar as relações existentes entre componentes e processos associados ao desenvolvimento de perfilhos durante sua ontogenia. Segundo o modelo, o crescimento da planta se dá a partir do desenvolvimento sequencial e ordenado de fitômeros individuais em três dimensões: comprimento, largura e espessura das folhas. Normalmente o crescimento não ocorre de forma igual nas três dimensões, implicando em um padrão alométrico de desenvolvimento. Essa descompensação no crescimento e expansão das folhas induz modificações de ordem anatômica e morfológica que têm impacto sobre as respostas fisiológicas determinantes do aporte de energia para o crescimento das plantas (fotossíntese). Adicionalmente, gera impacto também sobre a proporção relativa dos diferentes tipos de tecidos na lâmina foliar, com implicações sobre a composição química e o valor nutritivo da forragem consumida.

Figura 1. Modelo conceitual proposto das associações entre as principais variáveis envolvidas no presente estudo

2.7. Hipótese

Em plantas crescendo de forma isolada, sob condições de crescimento livre, o alongamento de folhas e, conseqüentemente da nervura central, ocorre de forma não proporcional, afetando a morfologia e a anatomia das lâminas foliares e interferindo em seu valor nutritivo. Desfolhações que removam apenas a porção terminal das folhas (em que a nervura central representa pequena proporção da lâmina foliar) resultam em remoção de forragem de valor nutritivo semelhante àquele de folhas pequenas e jovens, apesar da diferença de idade cronológica e fisiológica entre elas.

2.8. Objetivo

O objetivo deste estudo foi avaliar a relação entre tamanho final do limbo foliar, proporção da nervura central e sua relação com as características anatômicas e composição química (valor

nutritivo) ao longo dos segmentos basal, mediano-basal, mediano, mediano-apical e apical de lâminas foliares de diferentes tamanhos e ordens de inserção (fitômeros de 5 a 16) em perfilhos basais de capim-elefante cv. Napier.

2.9. Objetivos específicos

- Identificar se existe padrão comum na expansão das folhas de capim-elefante cv. Napier;
- Avaliar a distribuição de tecidos anatômicos ao longo do comprimento das lâminas foliares de capim-elefante cv. Napier;
- Avaliar se as porções finais de folhas grandes possuem valor nutritivo semelhante àquele de folhas pequenas, independente da idade cronológica e fisiológica entre elas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

A espécie estudada foi o *Pennisetum purpureum* Schum. cv. Napier (capim-elefante), planta pertencente à família *Poaceae*, subfamília *Panicoideae* e tribo *Paniceae*. É uma espécie do tipo perene, apresentando raízes rizomatosas, hábito de crescimento cespitoso, touceiras abertas, colmos grossos, folhas largas e florescimento intermediário (Xavier et al., 1995) e tem sido alvo de estudos pelo Grupo de Estudo com Plantas Forrageiras da ESALQ (GEPF) desde 2011. Com uma série de experimentos encerrada recentemente, o GEPF possui um banco de dados bastante completo das respostas morfofisiológicas dessa planta tanto sob condições de pastejo (planta crescendo em comunidade) (Pereira et al., 2013b, 2013a, 2014), quanto de forma isolada, em vasos (Silva, 2018). Por essa razão foi escolhida como planta modelo para a realização deste estudo.

Foram conduzidos dois experimentos concomitantes, no verão de 2017 (janeiro a março), utilizando um protocolo de plantas isoladas especificamente desenvolvido para este estudo, na Unidade Experimental de Plantas Forrageiras (UEPF), do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, pertencente à Universidade de São Paulo, no município de Piracicaba, Estado de São Paulo. As coordenadas geográficas aproximadas do local são 22°42’ de latitude Sul, 47°38’ de longitude Oeste e 546 m de altitude. O solo da área experimental é classificado como Nitossolo Vermelho Eutroférico, com horizonte A moderado e textura variando de argilosa a muito argilosa (EMBRAPA, 2006). Antes do estabelecimento do capim-elefante foram realizadas amostragens da terra para fins de determinação da fertilidade do solo em todas as unidades experimentais (Tabelas 1 e 2). Em razão da alta fertilidade apresentada, não houve necessidade de realizar correção e adubação do solo no momento do estabelecimento das plantas de capim-elefante nem aplicações de fertilizantes ao longo do período experimental.

Tabela 1. Características químicas da camada 0-20 cm do solo na área experimental referente ao experimento 1

pH	MO	P	S	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	CTC	V	m
CaCl ₂	g.dm ⁻³	mg.dm ⁻³	mmolc.dm ⁻³					%				
5,9	46,0	257,0	16,0	9,1	148,0	80,0	<1	15,0	237,1	252,1	94,0	0

Tabela 2. Características químicas da camada 0-20 cm do solo na área experimental referente ao experimento 2

pH	MO	P	S	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	CTC	V	m
CaCl ₂	g.dm ⁻³	mg.dm ⁻³	mmolc.dm ⁻³								%	
5,8	39,3	54,0	16,7	8,6	62,0	22,3	<1	29,0	93,0	122,0	76,0	1,0

O clima da região de Piracicaba, segundo classificação de Köppen, é do tipo Cwa, com precipitação média anual de 1328 mm. Os dados climáticos da área experimental foram coletados em estação meteorológica do Departamento de Ciências Exatas da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, localizada cerca de 500 m do local do experimento e são apresentados na Figura 1. A temperatura média do período experimental foi de 24,2°C e o índice pluviométrico referente ao período de dezembro de 2016 a março de 2017 foi de 753,85 mm, no qual 424,43 mm corresponderam à precipitação total para o experimento 1 (27 de dezembro de 2016 a 21 de fevereiro de 2017) e 502,14 mm à precipitação para o experimento 2 (09 de dezembro de 2016 a 14 de março de 2017), tendo a maior precipitação sido registrada no mês de janeiro com 336,55 mm.

Figura 2. Precipitação (mm), temperaturas máxima, média e mínima (°C) para a região de Piracicaba/SP, durante o período experimental (dezembro de 2016 a março de 2017)

Para evitar déficits hídricos, foi instalado na área do experimento 1, um sistema de irrigação por gotejamento e na do experimento 2 foi utilizado um sistema de irrigação por aspersão já existente na área experimental. Ambos eram acionados com base nos dados de precipitação, temperatura média e evapotranspiração. Sempre que chovia, a precipitação era quantificada e descontada no cálculo da irrigação, de modo a garantir que não ocorresse estresse hídrico, seja por falta ou excesso de água.

Para o extrato do balanço hídrico da cultura utilizou-se a Evapotranspiração de referência (ET_o), calculada pelo método padrão Penman-Monteith FAO-56 (Allen et al., 1998) utilizando-se os dados meteorológicos (velocidade do vento, radiação, temperatura e umidade relativa do ar) da estação meteorológica da ESALQ acima descrita, conforme Equação 1:

$$ET_o = \frac{0,408 \Delta (R_n - G) + \gamma \frac{900}{T + 273} u_2 (e_s - e_a)}{\Delta + \gamma (1 + 0,34 u_2)} \quad (1)$$

Onde: ET_o é a evapotranspiração de referência em mm dia^{-1} ; R_n é a Radiação Líquida na superfície da cultura ($\text{MJ m}^{-2} \text{dia}^{-1}$); G é o fluxo de calor para o solo ($\text{MJ m}^{-2} \text{dia}^{-1}$); γ é uma constante psicométrica; u_2 é a velocidade do vento a 2 m de altura (m.s^{-1}); e_s refere-se à pressão de saturação de vapor (kPa); e_a refere-se à pressão atual de vapor (kPa); T é a temperatura do ar a 2 m ($^{\circ}\text{C}$); e Δ é a taxa de variação da pressão de vapor em função da temperatura do ar ($\text{kPa } ^{\circ}\text{C}^{-1}$).

Foram utilizados valores tabelados de coeficiente de cultura (K_c) para pastagens obtidos pelo boletim FAO-56 ajustados de acordo com a fase de desenvolvimento da planta (0,4 a 1,0). Os valores de Evapotranspiração da cultura (ET_c) foram obtidos pela Equação 2:

$$ET_c = ET_o \times K_c \quad (2)$$

As lâminas de água das irrigações foram somadas com os valores de precipitação. Para o experimento 1 foi utilizada uma lâmina de água de 9 mm, quantidade suficiente para suprir a evapotranspiração da cultura e manter o solo úmido, uma vez que o mesmo estava exposto ao ambiente, o que aumentava ainda mais a evapotranspiração. A aplicação era feita nas primeiras horas do dia (20 min de irrigação quando necessário). No experimento 2, utilizou-se uma lâmina de água de 3 mm, capacidade máxima da caixa d'água instalada no local (15.000 litros dimensionados para irrigar 5.000 m^2). Não houve déficit hídrico durante o período experimental para ambos os experimentos, como se pode observar nas Figuras 3 e 4. O déficit hídrico apresentado na Figura 4 é posterior ao dia 14 de março de 2017, data em que foi realizada a última amostragem e interrupção da irrigação.

Figura 3. Extrato do balanço hídrico da cultura (quinzenal) para a região de Piracicaba/SP, durante o período de dezembro de 2016 a fevereiro de 2017. DEF(-1) = deficiência hídrica; EXC = excedente hídrico; D-1 = 01 de dezembro de 2016 a 15 de dezembro de 2016; D-2 = 16 de dezembro de 2016 a 31 de dezembro de 2016; J-1 = 01 de janeiro de 2017 a 15 de janeiro de 2017; J-2 = 16 de janeiro de 2017 a 31 de janeiro de 2017; F-1 = 01 de fevereiro de 2017 a 14 de fevereiro de 2017; e F-2 = 15 de fevereiro de 2017 a 28 de fevereiro de 2017 (Experimento 1)

Figura 4. Extrato do balanço hídrico da cultura (quinzenal) para a região de Piracicaba/SP, durante o período de dezembro de 2016 a março de 2017. DEF(-1) = deficiência hídrica; EXC = excedente hídrico; D-1 = 01 de dezembro de 2016 a 15 de dezembro de 2016; D-2 = 16 de dezembro de 2016 a 31 de dezembro de 2016; J-1 = 01 de janeiro de 2017 a 15 de janeiro de 2017; J-2 = 16 de janeiro de 2017 a 31 de janeiro de 2017; F-1 = 01 de fevereiro de 2017 a 14 de fevereiro de 2017; F-2 = 15 de fevereiro de 2017 a 28 de fevereiro de 2017; M-1 = 01 de março de 2017 a 15 de março de 2017; e M-2 = 16 de março de 2017 a 31 de março de 2017 (Experimento 2)

3.2. Métodos

3.2.1. Produção de propágulos

Para a produção de propágulos para o estabelecimento das plantas nas áreas experimentais, um piquete com aproximadamente 850 m² de pasto de capim-elefante originalmente estabelecido em 1970, pertencente ao Centro de Treinamento de Recursos Humanos do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, foi roçado em 07 de setembro e adubado com nitrato de amônio na dose de 100 kg de N ha⁻¹ nos dias 07 de setembro e 03 de outubro de 2016, sendo vedado desde a data da primeira adubação até o final da implantação dos experimentos, para que não fosse pastejado pelos animais que ocupavam a área.

3.2.2. Implantação e controle experimental – Experimento 1 (morfologia e anatomia foliar)

A área experimental era ocupada anteriormente por grama seda (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.), sendo utilizada como área reserva para outros experimentos. Para promover seu controle e permitir a realização do plantio, foram efetuadas aplicações de herbicidas de contato não seletivos à base de Glifosato (N-fosfonometil-glicina) e 2,4-D (2,4-diclorofenoxiacético) em 09 de setembro e 15 de novembro de 2016 e aplicação de Paraquat (1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride) em 11 de dezembro de 2016, ou seja, 16 dias antes do plantio, o qual ocorreu no dia 27 de dezembro de 2016.

Para o plantio, colmos provenientes da área acima descrita foram fracionados em estacas contendo apenas uma gema cada. As porções basal e terminal dos colmos foram descartadas como forma de assegurar que apenas gemas de maior potencial de brotação fossem utilizadas. A área experimental possuía cerca de 290 m². Na véspera do plantio foram feitas coroas de modo a remover a vegetação dessecada presente na superfície do solo e covas para o plantio das gemas. Foram distribuídas 10 gemas nas covas a 5 cm de profundidade (Figura 5a) e, em seguida, foram enterradas realizando-se uma leve compactação com as mãos. O espaçamento entre covas na linha foi de 1,5 m e entre linhas foi de 2,0 m como forma de garantir que não houvesse influência de sombreamento entre plantas. Após o período de estabelecimento de aproximadamente 15 dias (Figura 5b), as plantas foram selecionadas quanto à uniformidade de tamanho da parte aérea, suas folhas foram identificadas (Figura 5c), sendo então realizado um desbaste (Figura 5d), mantendo-se apenas uma planta por unidade experimental (Figura 5e).

Figura 5. Implantação do experimento 1 com o plantio das gemas de capim-elefante (a); perfilhos identificados com as folhas numeradas (b, c); desbaste (d); e vista da área experimental (e)

Em razão da declividade do terreno, o delineamento experimental adotado foi o de blocos completos casualizados, com quatro repetições, sendo os blocos aleatorizados por sorteio e as plantas aleatorizadas com auxílio do programa estatístico SAS.

Após o plantio, as espécies invasoras que apareceram na área experimental foram: caruru (*Amaranthus deflexus* L.), grama seda (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.), quicuio da Amazônia (*Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick cv. BRS Tupi) e tiririca (*Cyperus rotundus* L.). O manejo dessas plantas daninhas foi realizado por meio de roçadas entre as linhas, remoção com auxílio de enxada próximo às plantas e arranquio manual na base dos perfilhos, mantendo o solo sempre limpo para que não houvesse competição entre as plantas.

Além do manejo de plantas daninhas, durante o período experimental foi aplicado nas plantas o inseticida hidrossolúvel Resolva (Lambda-Cialotrina) para o controle de lagarta e pulgão, bem como o fungicida Nativo (Trifloxistrobina; Tebuconazol) para o controle de fungos.

As coletas de amostras seguiram a programação ontogênica da planta, iniciando-se pela planta 1, a qual correspondia a avaliação anatômica da 5ª folha; planta 2, que correspondia a avaliação anatômica da 6ª folha e avaliação morfológica da 5ª folha; planta 3 que correspondia a avaliação anatômica da 7ª folha e avaliação morfológica da 6ª folha; seguindo-se dessa maneira até a expansão da 16ª folha de avaliação morfológica (planta 13), totalizando 52 perfilhos (4 perfilhos para caracterização anatômica da 5ª folha expandida + 44 perfilhos para avaliações anatômicas (6ª a 16ª folha expandida) e morfológicas (5ª a 15ª folha expandida) + 4 perfilhos adicionais para caracterização morfológica da 16ª folha expandida). A cada coleta de folhas o perfilho amostrado foi removido da área experimental. Como forma de avaliar o efeito da idade da folha sobre a deposição de tecidos de sustentação, foi coletado em uma única amostragem, todas as folhas de 8 perfilhos (4 para avaliações anatômicas (planta 14) e 4 para avaliações morfológicas (planta 15) no momento da expansão da 16ª

folha, seguindo os mesmos critérios de avaliação e armazenamento de amostras. Adicionalmente, foram cultivadas 20 plantas como reserva, sendo 5 em cada bloco, de modo a garantir que todas as folhas em avaliação fossem amostradas, no entanto elas não chegaram a ser utilizadas. Dessa forma, a área experimental foi composta por 80 plantas (Figura 6).

Figura 6. Croqui referente à área do experimento 1 apresentando a aleatorização dos blocos completos casualizados e das plantas dentro de cada bloco

3.2.3. Avaliações – Experimento 1

Anatomia foliar

Assim que cada folha concluiu sua expansão e expôs a lígula, foi coletada, identificada, borrifada com água, acondicionada em saco plástico, armazenada em caixa de isopor com gelo e encaminhada imediatamente para processamento no laboratório de plantas forrageiras (LAPF), pertencente ao Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, onde teve seu comprimento mensurado (distância do ápice até sua base - lígula) e, a partir do seu comprimento total, foi seccionada em cinco frações de mesmo tamanho, identificadas da seguinte forma: 1) basal – porção mais próxima à inserção da folha no colmo; 2) mediano-basal – fração média da folha mais próxima a basal; 3) mediano – fração média da folha; 4) mediano-apical – fração média da folha mais próxima ao ápice foliar e 5) apical – fração correspondente a ponta da folha, sendo em seguida, cada uma das cinco frações fragmentada em cortes de 1 cm (Figura 7) e acondicionados em frascos com capacidade para 30 mL cobertos com solução fixadora de FAA (90 mL de etanol 50%, 5 mL de ácido acético glacial, 5 mL de formaldeído a 37%), conforme metodologia descrita por Johansen (1940). Os frascos foram armazenados em geladeira para posterior montagem das lâminas histológicas e quantificação dos tecidos anatômicos.

Figura 7. Lâmina foliar de capim-elefante referente ao fitômero 5, bloco 4, seccionada nos segmentos: basal, mediano-basal, mediano, mediano-apical e apical, bem como fracionada em cortes de 1cm para análise de anatomia foliar

A desidratação (Figura 8a) das amostras foi feita após o término das coletas de campo, e a realização das análises de valor nutritivo ocorreu entre os meses de outubro e dezembro de 2017. Para isso, os fragmentos de lâminas foliares armazenados em FAA foram submetidos à série alcoólica progressiva com álcool butílico terciário de acordo com Dankin e Hussey (1985) e incluídos em paraplast.

A montagem das lâminas histológicas e a captura das imagens foram feitas na sequência, entre os meses de janeiro e março de 2018. Nesta etapa, os fragmentos foram seccionados

transversalmente, com espessura de 12 μm , com auxílio de um micrótomo rotativo manual da marca Leica Biosystems (Figura 8b) e, em seguida, efetuou-se a coloração dos tecidos (Figura 8c) e a montagem das lâminas permanentes (Figura 8d) segundo a metodologia descrita por Hagquist (1974).

Figura 8. Secções da folha 16, bloco 1, após desidratação (a); amostra emblocada em paraplast para secção transversal no micrótomo (b); uma das etapas de coloração das amostras após secção (c); e lâmina permanente finalizada (d)

A captura das imagens foi realizada pelo software AxioVision (V2.05, Carl Zeiss Vision) acoplado a um microscópio óptico binocular da marca Zeiss Axioskop 2 e câmera digital Zeiss AxioCam MRc (1.388×1.040 pixels). Inicialmente foram coletadas imagens da nervura central de cada fragmento utilizando-se a lente objetiva de $5\times$. Posteriormente, com a lente objetiva de $20\times$, foram coletadas imagens do limbo foliar a partir do primeiro feixe maior após a nervura central, como forma de padronizar as leituras, que foram feitas entre os meses de abril e maio de 2018.

Para a estimativa da proporção de cada tecido nas lâminas foliares foi utilizado o software AxioVision (AxioVs40, release 4.8.2.0, Carl Zeiss Micro Imaging GmbH, Germany). Inicialmente, foi medida toda a área da secção transversal projetada no vídeo (ATotal) e, então, foi determinada a área ocupada pelos tecidos das epidermes adaxial (EPIada) e abaxial (EPIaba), da bainha parenquimática dos feixes vasculares (BPF), do tecido vascular (TV) e do esclerênquima (ESC). A área do mesófilo (MES) foi calculada por diferença entre a área total e a dos demais tecidos (Figura 9a). As medidas foram realizadas em μm^2 e os resultados calculados como porcentagem da área de cada tecido em relação à área total.

Além da composição anatômica, foram tomadas medidas da espessura (μm) da epiderme abaxial (Esp. EPIaba), da epiderme adaxial na região da célula buliforme (Esp. EPIada. Bul), da epiderme adaxial na região das células menores (Esp. EPIada. Men), da lâmina foliar (Esp. LF) (Figura 9b) e da nervura central (Esp. NV) (Figura 9c). Todas as medidas foram realizadas em três pontos distintos da amostra.

Figura 9. Seções transversais de lâmina foliar de capim-elefante. 8a – Limbo foliar referente ao fitômero 12, bloco 1, segmento basal, EPIada = epiderme adaxial; TV = tecido vascular; Esc = esclerênquima; BPF = bainha parenquimática dos feixes vasculares; EPIaba = epiderme abaxial; e Mes = mesófilo. 8b - Limbo foliar referente ao fitômero 12, bloco 1, segmento basal; Esp. LF = espessura da lâmina foliar; Esp. EPIada. Men = espessura da epiderme adaxial na região da célula menor; Esp. EPIada. Bul = espessura da epiderme adaxial na região da célula buliforme; e Esp. EPIaba = espessura da epiderme abaxial. 8c – Nervura central referente ao fitômero 6, bloco 1, segmento mediano, Esp. NC = espessura da nervura central. (12 μm ; a – b objetiva de 20 $\times$; c objetiva de 5 $\times$)

Morfologia foliar

Após a expansão de cada folha (5^a a 16^a), o perfilho foi cortado, identificado, borrifado com água, armazenado em caixa de isopor com gelo e levado ao laboratório imediatamente. Em seguida, a folha foi cortada na região da lígula, seu comprimento foi mensurado (distância do ápice até sua base - lígula) e, a partir do seu comprimento total, foi seccionada em 10 frações de mesmo tamanho. Na parte central de cada fração foi medida a largura do fragmento, que correspondeu à distância entre as bordas da lâmina, com o auxílio de uma régua graduada em centímetros. Em seguida, foram separados os componentes limbo foliar e nervura central com auxílio de um bisturi (Figura 10). A nervura central teve sua largura e comprimento medidos com régua graduada em centímetros. Em seguida, cada fração foi passada em aparelho integrador de área foliar, marca LI-COR, modelo LAI-3100 e levadas imediatamente para secagem em estufa de circulação forçada de ar a 55°C até massa constante. Após, as amostras foram pesadas em balança analítica com precisão de quatro casas decimais e os respectivos valores foram utilizados para o cálculo da massa seca (mg) e área foliar específica ($\text{cm}^2.\text{mg}^{-1}$).

Figura 10. Lâmina foliar de capim-elefante referente ao fitômero 9, bloco 3, seccionada em 10 partes iguais, separadas em limbo foliar e nervura central para análise de morfologia foliar

3.2.4. Implantação e controle experimental – Experimento 2 (valor nutritivo)

A área experimental possuía cerca de 3.000 m², ocupados previamente por amendoim forrageiro (*Arachis pintoi* cv. Belmonte). Para promover seu controle e permitir a realização do plantio do capim-elefante, foram efetuadas aplicações de herbicidas de contato não seletivos à base de Glifosato (N-fosfonometil-glicina) e 2,4-D (2,4-diclorofenoxiacético) em 08 de setembro, 01 de outubro e 15 de novembro de 2016.

A dessecação do amendoim forrageiro favoreceu o aparecimento de tiririca (*Cyperus rotundus* L.) e margaridinha (*Sphagneticola trilobata* L.). Para facilitar o manejo dessas espécies, bem como a implantação do experimento, a área foi dividida em três blocos homogêneos, utilizados posteriormente no delineamento experimental. Então, foi realizada uma roçada em toda a área em 30 de novembro de 2016, bem como aplicações do herbicida Paraquat (1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride) em 06 de dezembro (blocos 2 e 3) e em 11 de dezembro de 2016 (bloco 1), ou seja, vésperas antes do plantio.

O plantio foi realizado em duas etapas: blocos 2 e 3 em 09 de dezembro; e bloco 1 em 13 de dezembro de 2016. Para isso, colmos provenientes da área especificamente preparada para produção de propágulos descrita anteriormente foram fracionados em estacas contendo apenas uma gema cada. As porções basal e terminal dos colmos foram descartadas como forma de assegurar que apenas gemas de maior potencial de brotação fossem utilizadas. Na semana do plantio foram feitas coroas de modo a remover a vegetação dessecada presente na superfície do solo e na véspera foram feitas as covas para o plantio das gemas. Foram distribuídas seis gemas nas covas a 5 cm de profundidade e, em seguida, foram enterradas realizando-se uma leve compactação com as mãos. O espaçamento entre covas na linha e entre linhas foi de 1,0 m como forma de garantir que não houvesse influência de sombreamento e competição entre plantas (Figura 11).

Figura 11. Implantação do experimento 2 com o plantio de gemas de capim-elefante

Porém, três dias após o plantio do último bloco, ou seja, em 16 de dezembro de 2016, houve uma ruptura em um dos canos pertencentes ao sistema de irrigação por aspersão, impedindo o abastecimento da caixa d'água, sendo seu reparo finalizado somente em 23 de dezembro de 2016. Ademais, não choveu nos dias 14, 15 e 16 de dezembro de 2016, período no qual a água é essencial tanto para as gemas recém-plantadas, quanto para as plântulas emergidas. Dessa forma, 80% do plantio foi perdido.

Como algumas plântulas haviam apresentado danos por lagartas, foi aplicado no dia 20 de dezembro de 2016, em toda a área experimental, o inseticida de contato e ingestão Keshet 25 EC (deltametrina), com o objetivo de proteger as plântulas que haviam emergido, bem como para o novo plantio.

O replantio foi realizado no dia 30 de dezembro de 2016, nas covas onde as plântulas não emergiram, seguindo o mesmo protocolo do plantio anterior (6 gemas por cova, 5 cm de profundidade e compactação leve com as mãos).

Foram cultivadas 1320 plantas, divididas em 3 blocos homogêneos com 440 plantas cada (Figura 12), de modo a proporcionar a quantidade necessária de material seco e moído para as análises de valor nutritivo.

Croqui Experimento 2

Figura 12. Croqui da área referente ao experimento 2 (valor nutritivo) apresentando a divisão dos blocos completos casualizados contendo 440 plantas em cada um

Após o período de estabelecimento de aproximadamente 20 dias, as plantas foram selecionadas quanto à uniformidade de tamanho da parte aérea, sendo então realizado um desbaste, mantendo-se apenas uma planta por unidade experimental.

Após o plantio, as espécies indesejáveis que apareceram na área experimental foram: amendoim forrageiro (*Arachis pintoii* cv. Belmonte), caruru (*Amaranthus deflexus* L.), *Cynodon dactylon* (L.) Pers.), quicuiu da Amazônia (*Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick cv. BRS Tupi), tiririca (*Cyperus rotundus* L.) e trapoeraba (*Commelina communis* L.). O manejo dessas plantas daninhas foi realizado por meio de roçadas entre as linhas, remoção com auxílio de enxada próximo às plantas e arranquio manual na base dos perfilhos, mantendo o solo sempre limpo para que não houvesse competição entre as plantas. Após o estabelecimento do capim-elefante foi aplicado entre as linhas o herbicida 2,4-D (2,4-diclorofenoxiacético) com o objetivo controlar com maior eficiência o amendoim forrageiro.

Além do manejo de plantas daninhas, durante o período experimental foi aplicado na área Keshet 25 EC (deltametrina) para o controle de lagarta e pulgão e o Nativo (Trifloxistrobina; Tebuconazol) para o controle de fungos.

As amostragens foram realizadas quando a 16ª folha concluiu sua expansão e expôs a lígula (Figura 13a). Os perfilhos principais foram coletados (Figura 13b) e levados em caixa de isopor com

gelo imediatamente ao laboratório, onde as folhas, que haviam sido identificadas anteriormente no campo, foram separadas (folhas 8 a 16) (Figura 13c), as bainhas removidas (Figura 13d) e as lâminas foliares armazenadas em freezer para posterior segmentação. As folhas 5, 6 e 7 foram descartadas por estarem senescentes ou em estágio avançado de senescência, permanecendo nas avaliações somente as folhas 8 a 16.

Figura 13. Perfilho de capim-elefante com a 16ª folha expandida (a); amostragem do perfilho principal (b); separação das folhas 8 a 16 (c); e remoção da bainha na região da lígula (d)

3.2.5. Avaliações – Experimento 2

Valor nutritivo

Após encerrar as coletas de campo, em 14 de março de 2017, as folhas tiveram seu comprimento mensurado (distância do ápice até sua base - lígula) e, a partir do seu comprimento total, foram seccionadas em cinco frações de mesmo tamanho, identificadas da seguinte forma: 1) basal – porção mais próxima à inserção da folha no colmo; 2) mediano-basal – fração média da folha mais próxima a basal; 3) mediano – fração média da folha; 4) mediano-apical – fração média da folha mais próxima ao ápice foliar e 5) apical correspondente a ponta da folha (Figura 14). Após seccionamento, o material foi levado para secagem em estufa de circulação forçada de ar a 55°C até massa constante.

Figura 14. Lâmina foliar de capim-elefante referente ao fitômero 11, bloco 1, seccionada nos segmentos: basal, mediano-basal, mediano, mediano-apical e apical para análise de valor nutritivo

Após secagem das amostras, em razão da fração apical ser muito delicada, o material foi moído em micro moinho tipo “Willey” com peneira de 1 mm, reduzindo-se as perdas. As análises químicas foram realizadas em duplicatas, entre os meses de agosto e setembro de 2017, após finalização da moagem das amostras. O valor nutritivo foi determinado por meio das seguintes análises químicas: digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), utilizando-se o fermentador artificial de rúmen DAISY^{II} da ANKOM® Technology Corporation (Mabjeesh et al., 2000); nitrogênio total (N total), determinado por combustão via seca da amostra a 1400 °C utilizando-se o sistema Leco FP 528 (LECO CORPORATION, St. JOSEPH, MI, EUA); e o teor de matéria mineral (MM), determinado de acordo com a metodologia descrita por (Silva e Queiroz, 2002). Os teores de proteína bruta (PB) foram estimados multiplicando-se os teores de N total por 6,25.

3.2.6. Análise dos dados.

Para os dados de morfologia e anatomia foliar, inicialmente, foram utilizados procedimentos de análise estatística descritiva.

Como forma de identificar se havia um padrão de crescimento para os fitômeros, os dados de comprimento e largura dos segmentos foram transformados para tamanhos relativos da seguinte forma: comprimento do segmento 1 dividido pelo comprimento total da folha (S1), comprimento do segmento 1 + comprimento do segmento 2 dividido pelo comprimento total da folha (S2), comprimento do segmento 1 + comprimento do segmento 2 + comprimento do segmento 3 dividido pelo comprimento total da folha (S3), procedendo-se o cálculo até o segmento 10 (S10); para os dados de largura total (limbo + nervura central), os valores de cada segmento foram divididos pela largura máxima obtida entre os segmentos (1-10). Os dados de largura relativa foram submetidos a análise multivariada (MANOVA) de perfil e comparadas por contraste aplicando-se os testes estatísticos de *Wilks' Lambda*, *Pillai's Trace* e *Hotelling-Lawley Trace* a 5% de probabilidade.

Com o objetivo de identificar o ponto de quebra dos fitômeros, no qual a folha começa a estreitar acentuadamente e adquirir o formato lanceolado típico das gramíneas, os dados de comprimento relativo dos segmentos e largura relativa foram analisados por regressão segmentada utilizando o comando PROC NLIN do pacote estatístico do SAS.

Os valores de massa seca total da lâmina foliar e massa seca total da nervura central, foram obtidos por meio do somatório dos dez segmentos de cada folha e foram submetidos a análise de regressão, a fim de identificar a correlação entre essas duas variáveis.

Os dados de valor nutritivo foram analisados utilizando-se o PROC GLM do pacote estatístico SAS e a comparação de médias realizada pelo teste *Tukey* a 5% de probabilidade, segundo o modelo estatístico com efeito fixo para bloco e fitômero:

$$Y_{ij} = \mu + B_i + F_j + \varepsilon_{ij}$$

Onde Y_{ij} = resposta esperada; μ = constante; B_i = bloco i ; F_j = fitômero j ; ε_{ij} = efeito aleatório do erro experimental $\sim \text{NID}(0; \sigma^2_\varepsilon)$.

Como forma de procurar integração dos resultados de morfologia, anatomia e valor nutritivo das folhas, bem como caracterizar as lâminas foliares, foi realizada análise de componentes principais (PCA) em subconjunto de dados composto pelas variáveis em que foram registrados os maiores efeitos das causas de variações estudadas: Variáveis morfológicas - comprimento da folha, comprimento do segmento, largura da lâmina foliar, largura da nervura central, largura total (limbo foliar + nervura central), massa seca do limbo foliar, massa seca da nervura central, massa seca total (limbo foliar + nervura central) e área foliar específica; Variáveis anatômicas - mesofilo, feixes vasculares (bainha parenquimática dos feixes vasculares + tecido vascular), epiderme total e esclerênquima; e Variáveis de valor nutritivo - proteína bruta, digestibilidade *in vitro* da matéria seca e matéria mineral. Para balancear o número de segmentos entre as folhas, tendo em vista que nas análises de morfologia foliar as folhas eram seccionadas em 10 segmentos e nas análises de anatomia foliar e valor nutritivo as folhas eram seccionadas em 5 segmentos, os segmentos de morfologia foliar foram agrupados da seguinte forma: soma dos valores referentes aos segmentos 1-2, 3-4, 5-6, 7-8 e 9-10 que passaram a ser 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente, para as variáveis de comprimento do segmento, massa seca do limbo foliar, massa seca da nervura central, massa seca total (limbo foliar + nervura central) e área foliar específica; média dos segmentos 1-2, 3-4, 5-6, 7-8 e 9-10, que passaram a ser 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente, para as variáveis de largura do limbo foliar, largura da nervura central e largura total (limbo + nervura central). Dessa forma, todas as variáveis do banco de dados obtinham cinco segmentos por folha. A PCA foi realizada utilizando o comando PROC PRINCOMP e os *biplots* obtidos utilizando o comando PROC PRINQUAL, ambos do pacote estatístico do SAS.

Com o mesmo banco de dados utilizado para a PCA foi realizada também análise de agrupamento pelo método de associação das médias (UPGMA) utilizando o comando PROC CLUSTER do pacote estatístico SAS, com o objetivo de agrupar os fitômeros pela similaridade entre seus elementos.

4. RESULTADOS

4.1. Padrão de expansão (morfologia foliar)

As lâminas foliares de capim-elefante cv. Napier apresentaram aumento no comprimento total associado a aumento na proporção de nervura central de acordo com a ordem de inserção no perfilho. Nas folhas de menor ordem de inserção, folhas menores, 70% da massa seca eram de limbo foliar e 30% de nervura central. Nas folhas de maior ordem de inserção, folhas maiores, cerca de 60% eram de massa seca de limbo foliar e 40% de nervura central (Tabela 3).

Tabela 3. Comprimento final e massa seca de limbo foliar e de nervura central de lâminas foliares de capim-elefante cv. Napier

Fitômeros	CF (cm)	EPM	MSN (mg)	MSL (mg)	EPM*	MSN (% MS total)**	MSL (% MS total)**
8	28,4	1,16	43	100	5,9	30	70
9	34,2	2,13	63	145	83,8	30	70
10	41,8	0,79	107	192	13,9	36	64
11	46,1	3,30	135	264	33,8	34	66
12	55,3	3,13	189	318	22,9	37	63
13	60,6	1,25	238	380	13,1	39	61
14	61,1	3,25	234	383	30,0	38	62
15	66,8	3,14	299	500	46,6	37	63
16	73,9	0,70	368	525	15,3	41	59

CF = comprimento da folha; EPM = erro padrão da média; MSN = massa seca de nervura central; MSL = massa seca de limbo foliar; * = erro padrão da média das massas secas de nervura central e limbo foliar; ** = porcentagem da massa seca total da lâmina foliar.

A nervura central acompanhou todo o comprimento da lâmina foliar, porém representou proporção maior nos segmentos próximos à base da folha (segmentos 1 e 2) e proporções mínimas no ápice foliar (segmentos 9 e 10) (Figura 15). Quanto maior o comprimento final da lâmina foliar (fitômeros 14, 15 e 16), maior foi proporção de nervura central, com valores variando de 11,6 a 94,5 mg de massa seca no segmento basal (segmento 1) e 0,5 a 2,2 mg de massa seca para o segmento apical (segmento 10) das folhas 8 e 16, respectivamente.

Figura 15. Massa seca de nervura central ao longo das lâminas foliares de diferentes níveis de inserção em perfilhos de capim-elefante cv. Napier

Quando somados os valores de massa seca da nervura central e de lâmina foliar total dos segmentos (valores para folhas inteiras referentes aos fitômeros), foi observado que o crescimento da nervura central variou linearmente em relação ao aumento na massa da folha ($R^2 = 0,99$) (Figura 16).

Figura 16. Relação entre a massa seca total de nervura central (mg) e massa seca total de lâmina foliar (mg) de capim-elefante cv. Napier

Apesar das diferenças em proporção de limbo foliar e de nervura central ao longo do comprimento da lâmina foliar, houve um padrão comum de crescimento para todas as folhas. Nos primeiros 2/3 da folha ocorreu aumento na largura conforme o aumento no comprimento da lâmina foliar e, no terço final, ocorreu redução acentuada na largura, a qual correspondeu às frações finais da folha (sentido ao ápice), conferindo o formato lanceolado que a lâmina foliar das gramíneas

normalmente apresenta (Figura 17). As curvas de largura relativa das folhas foram submetidas a análise multivariada (MANOVA) de perfil e comparadas por contraste com $p < 0,05$. Não houve diferença significativa entre fitômeros para os testes de *Wilks' Lambda*, *Pillai's Trace* e *Hotelling-Lawley Trace* ($GL = 27$; $p > F > 0,05$) (Tabela 4). A análise de regressão segmentada identificou o mesmo padrão de ponto de quebra para todos os fitômeros ($p < 0,0001$), com variação dos limites de 95% de confiança inferior e superior para os fitômeros de 0,63 a 0,75, respectivamente. O ponto médio estimado no qual a largura da lâmina foliar foi reduzida de forma acentuada foi de 0,68 (entre os segmentos 6 e 7) (Tabela 5).

Figura 17. Relação entre a largura relativa e o comprimento relativo de lâminas foliares de diferentes níveis de inserção em perfilhos de capim-elefante cv. Napier

Tabela 4. Análise multivariada de perfil das curvas de largura relativa das lâminas foliares de capim-elefante cv. Napier comparadas por contraste

Fitômeros	8	9	10	11	12	13	14	15	16
8	-	1,90 ^{ns}	1,97 ^{ns}	1,16 ^{ns}	1,64 ^{ns}	2,16 ^{ns}	1,64 ^{ns}	1,19 ^{ns}	1,18 ^{ns}
9	0,0893	-	0,90 ^{ns}	0,43 ^{ns}	0,64 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,49 ^{ns}	0,78 ^{ns}	1,34 ^{ns}
10	0,0785	0,5472	-	0,64 ^{ns}	1,17 ^{ns}	0,90 ^{ns}	0,81 ^{ns}	1,16 ^{ns}	1,74 ^{ns}
11	0,3603	0,9210	0,7683	-	0,62 ^{ns}	0,55 ^{ns}	0,65 ^{ns}	0,48 ^{ns}	1,09 ^{ns}
12	0,1482	0,7690	0,3528	0,7798	-	0,24 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,68 ^{ns}
13	0,0541	0,9892	0,5449	0,8372	0,9889	-	0,21 ^{ns}	0,43 ^{ns}	1,04 ^{ns}
14	0,1477	0,8818	0,6239	0,7584	0,9856	0,9939	-	0,41 ^{ns}	0,90 ^{ns}
15	0,3423	0,6508	0,3561	0,8876	0,9854	0,9191	0,9279	-	0,61 ^{ns}
16	0,3481	0,2591	0,1231	0,4062	0,7335	0,4384	0,5485	0,7942	-

Valores na parte triangular superior referem-se ao contraste-*F* e valores na parte triangular inferior referem-se ao valor-*p* a 0,05 de probabilidade.

Tabela 5. Análise de regressão segmentada da largura relativa de lâminas foliares de diferentes níveis de inserção em perfilhos de capim-elefante cv. Napier

Fitômeros	<i>Limite de confiança*</i>		Estimado**	Erro	Valor-F	Valor-p
	Inferior	Superior				
8	0,63	0,71	0,67	0,02	114,37	<0,0001
9	0,66	0,71	0,68	0,01	283,63	<0,0001
10	0,66	0,71	0,69	0,01	212,44	<0,0001
11	0,71	0,75	0,73	0,03	541,38	<0,0001
12	0,67	0,71	0,69	0,01	287,51	<0,0001
13	0,67	0,70	0,68	0,01	449,99	<0,0001
14	0,66	0,70	0,68	0,01	470,75	<0,0001
15	0,67	0,71	0,69	0,01	335,20	<0,0001
16	0,65	0,70	0,67	0,01	339,35	<0,0001
Geral	0,67	0,69	0,68	0,01	1447,79	<0,0001

* Limite de confiança a 95%; **ponto de convergência estimado para os fitômeros.

Com relação à área foliar específica, independente da ordem de inserção do fitômero no perfilho, maiores valores foram registrados nos segmentos próximos ao ápice foliar (segmentos 8, 9 e 10) (Tabela 6).

Tabela 6. Área foliar específica de lâminas foliares de capim-elefante cv. Napier

Fitômeros	Segmentos									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
8	196	222	233	247	260	274	281	304	327	214
	(6,9)	(3,8)	(7,7)	(5,4)	(2,9)	(9,3)	(17,3)	(14,0)	(25,2)	(33,5)
9	195	220	233	249	266	279	295	314	309	288
	(7,2)	(11,4)	(5,5)	(5,3)	(3,6)	(8,8)	(9,5)	(8,5)	(8,0)	(20,8)
10	152	174	191	219	247	267	281	314	299	275
	(5,1)	(2,5)	(5,4)	(8,7)	(13,6)	(16,4)	(17,6)	(21,0)	(21,3)	(6,9)
11	129	151	160	179	195	210	222	250	231	209
	(11,5)	(11,5)	(13,8)	(17,1)	(22,3)	(22,5)	(20,8)	(21,5)	(26,4)	(24,8)
12	115	137	148	163	175	186	197	199	210	190
	(5,5)	(10,2)	(10,6)	(10,4)	(11,3)	(8,3)	(6,8)	(5,8)	(9,3)	(14,3)
13	98	110	122	138	156	173	178	196	186	151
	(4,6)	(3,2)	(1,5)	(3,2)	(5,8)	(4,5)	(5,2)	(8,1)	(8,0)	(21,7)
14	103	121	132	152	164	170	192	209	210	167
	(1,3)	(2,5)	(2,7)	(3,0)	(4,5)	(2,8)	(7,1)	(6,4)	(9,9)	(8,7)
15	100	113	116	127	143	158	166	190	197	142
	(3,7)	(4,2)	(3,1)	(6,6)	(7,9)	(4,9)	(4,2)	(10,9)	(10,9)	(8,3)
16	91	106	119	128	140	162	180	190	188	138
	(4,5)	(2,8)	(4,4)	(5,8)	(5,6)	(6,3)	(10,5)	(22,2)	(19,2)	(12,2)

Valores entre parênteses correspondem ao erro padrão da média.

4.2. Características anatômicas

Com relação às características anatômicas, não foram observadas variações discrepantes ao longo dos segmentos das lâminas foliares como ocorreu com as variáveis morfológicas. Para a porcentagem de mesofilo foi observado padrão de variação comum para todos os fitômeros, segundo o qual maiores porcentagens de mesofilo foram mensuradas na fração basal e menores nas frações mediano-apical e apical das folhas, com variações de 45-52; 43-48; 42-47; 41-46 e 40-44% da área total nos segmentos 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente (Figura 18a). O mesmo padrão foi registrado para a porcentagem de esclerênquima. Para este componente anatômico as variações foram de 0,9 a 2,0; 0,4 a 1,5; 0,3 a 1,3; 0,2 a 1,0 e 0,1 a 1,0% da área total nos segmentos 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente (Figura 18b). Para a porcentagem de bainha parenquimática dos feixes vasculares e tecido vascular, maiores valores foram mensurados nos segmentos mediano basal e mediano (2 e 3), com variações de 18 a 26% da área total (Figura 18c).

Os padrões de resposta das variáveis anatômicas referentes à idade da planta (corte realizado quando o 16º fitômero completou sua expansão e expôs sua lígula) foram, de maneira geral, muito semelhantes àqueles de fitômeros recém expandidos. As variações encontradas foram: Mesofilo - 47-52; 44-49; 43-47; 42-46 e 41-44% da área total (Figura 19a); Esclerênquima - 0,7 a 2,0; 0,5 a 1,8; 0,4 a 1,4 0,2 a 1,2 e 0 a 0,6% da área total (Figura 19b), ambos para os segmentos 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente e, Bainha parenquimática dos feixes vasculares e tecido vascular - 17 a 25% da área total (apenas 1% aproximadamente de diferença das variações referentes aos fitômeros recém expandidos) (Figura 19c).

Figura 18. Porcentagem de componentes anatômicos em relação à área total de lâminas foliares de capim-elefante cv. Napier. A, B e C = mesofilo, bainha parenquimática dos feixes vasculares + tecido vascular e esclerênquima, respectivamente. Fitômeros colhidos individualmente assim que completaram sua expansão (recém expandidos)

Figura 19. Porcentagem de componentes anatômicos em relação à área total de lâminas foliares de capim-elefante cv. Napier. A, B e C = mesofilo, bainha parenquimática dos feixes vasculares + tecido vascular e esclerênquima, respectivamente. Fitômeros colhidos quando da completa expansão da 16ª folha

4.3. Valor nutritivo

A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e a porcentagem de proteína bruta (PB) variaram ao longo do comprimento das lâminas foliares ($p < 0,0001$). A porção apical (segmento 5) do fitômero 16, que apresentou maiores comprimentos e menores porcentagens de nervura central, apresentou maior DIVMS (85,8%), uma vez que era a folha mais jovem do perfilho. Valores semelhantes de DIVMS foram registrados nos segmentos 1, 2, 3 e 4 dos fitômeros 8, 9 e 10; segmentos 2, 3 e 4 do fitômero 11; segmentos 3, 4 e 5 dos fitômeros 12, 13, 14 e 15 e segmento 4 do próprio fitômero 16 (Tabela 7). Valores menores de DIVMS foram registrados nas frações apicais de folhas pequenas e mais velhas, de menor nível de inserção. No tocante à PB, o maior valor registrado foi no segmento apical (segmento 5) do fitômero 16 (Tabela 8), não diferindo do segmento mediano-apical (segmento 4) da folha 10, dos segmentos 4 e 5 dos fitômeros 11, 12, 13, 14 e 15 e dos segmentos 3 e 4 do próprio fitômero 16. De maneira geral, maiores valores de PB foram observados nas frações apicais das lâminas foliares dos fitômeros de maior nível de inserção no perfilho e menores nas frações basais das lâminas foliares de todos os fitômeros.

Tabela 7. Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) ao longo das lâminas foliares de diferentes níveis de inserção em perfilhos de capim-elefante cv. Napier

Fitômeros	Segmentos				
	1	2	3	4	5
8	83,5 abcd (0,93)	83,9 abc (0,47)	83,6 abcd (0,98)	82,2 abcdef (0,81)	77,9 gh (0,57)
9	83,1 abcd (0,20)	83,8 abcd (0,36)	85,0 ab (1,50)	83,2 abcd (0,34)	80,1 cdefgh (0,77)
10	82,0 abcdefg (0,09)	83,2 abcd (0,47)	83,2 abcd (0,47)	81,7 abcdefg (0,63)	80,3 cdefg (0,77)
11	81,2 bcdefg (0,82)	83,5 abcd (0,28)	82,5 abcdef (0,41)	83,5 abcd (1,53)	79,9 cdefgh (1,15)
12	81,0 bcdefg (0,83)	81,5 bcdefg (0,57)	82,8 abcde (0,41)	82,6 abcdef (1,84)	82,6 abcdef (1,17)
13	78,5 fgh (0,41)	81,1 bcdefg (0,99)	82,6 abcdef (0,81)	82,2 abcdefg (1,27)	81,9 abcdefg (0,19)
14	79,6 defgh (0,35)	79,6 defgh (0,65)	81,8 abcdefg (0,62)	82,7 abcdef (0,49)	83,4 abcd (0,81)
15	75,9 h (1,29)	78,8 efgh (0,27)	81,7 abcdefg (0,74)	83,7 abcd (1,21)	82,6 abcdef (0,80)
16	78,7 efgh (0,95)	78,5 fgh (0,64)	80,9 bcdefg (0,77)	81,7 abcdefg (0,71)	85,8 a (1,32)

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ($p > 0,05$). Valores entre parênteses correspondem ao erro padrão da média.

Tabela 8. Porcentagem de proteína bruta (PB) ao longo das lâminas foliares de diferentes níveis de inserção em perfilhos de capim-elefante cv. Napier

Fitômeros	Segmentos				
	1	2	3	4	5
8	11,6 o (0,40)	14 klmn (0,39)	15,1 ghijk (0,42)	15,8 fghijk (0,32)	15,5 fghijk (0,86)
9	12,0 no (0,32)	14,8 ijklm (0,25)	16,4 defghij (0,46)	16,8 cdefghi (0,27)	16,4 defghij (0,14)
10	12,6 mno (0,38)	15,3 fghijk (0,62)	16,0 efghijk (0,07)	18,1 abcde (0,18)	17,3 bcdefg (0,18)
11	12,7 lmno (0,52)	14,9 hijkl (0,11)	17,3 bcdefg (0,75)	18,5 abcd (0,68)	17,6 abcdef (0,29)
12	11,8 no (0,90)	14,5 jklm (0,69)	17,4 bcdef (0,85)	18,3 abcde (0,66)	18,4 abcd (0,90)
13	11,3 o (0,48)	14 klmn (0,16)	16,5 defghij (0,37)	19,1 abc (0,42)	18,6 abcd (0,67)
14	11,5 o (0,56)	14,6 ijklm (0,55)	17,3 bcdefg (0,65)	18,6 abcd (0,28)	18,5 abcd (0,44)
15	11,8 no (0,30)	14,9 hijkl (0,54)	17,2 bcdefgh (0,27)	19,2 ab (0,27)	19,5 ab (0,57)
16	11,0 o (0,16)	14,4 jklm (0,02)	17,6 abcdef (0,42)	19,2 ab (0,31)	19,9 a (0,71)

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ($p>0,05$). Valores entre parênteses correspondem ao erro padrão da média.

4.4. Relações entre características morfológicas, anatômicas e valor nutritivo

4.4.1. Análise de componentes principais

Três componentes principais foram selecionados de acordo com os autovalores da matriz de correlação, segundo o critério de Kaiser, o qual é baseado na presença de componentes com autovalores maiores que 1. O primeiro componente principal (PC1) explicou 51,08% da variação dos dados, o segundo (PC2) explicou 23,55% e o terceiro componente explicou 13,02%, ou seja, os três componentes principais juntos explicaram 87,65% da variação total do banco de dados utilizado. O arranjo dos vetores no gráfico *biplot* PC1 $\times$ PC2, que representou 74,63% da variação do banco de dados, mostra que as folhas de maiores comprimentos se caracterizaram da seguinte forma: nas frações basais (quadrante 4) por altos valores de ESC, MSN, LN e MES e baixos valores de PB, AFE, DIVMS e EpiT; nas frações medianas (quadrante 1) por altos valores das variáveis FV, CF, CS, MSL, MST, LL e LT e baixos valores de MM e, nas frações próximas ao ápice (quadrante 2) por altos valores de PB, AFE, DIVMS e EpiT e baixos valores de ESC, MSN, LN e MES. No quadrante 3 ficaram representadas as folhas menores, independentemente de suas porções ou segmentos, que se caracterizaram por altos valores de MM e baixos valores de FV, CF, CS, MSL, MST, LL e LT (Figura 20). No *biplot* PC1 $\times$ PC3, que representou 64,10% da variabilidade total do banco de dados, as folhas com menores comprimentos, porém mais velhas, se caracterizaram por altos valores de DIVMS, MM,

PB, EpiT e AFE (quadrante 2) e baixos valores de FV, ESC, MES, MSN, CF, CS (quadrante 4) (Figura 21).

Figura 20. Biplot para características morfológicas: comprimento da folha (CF), comprimento do segmento (CS), largura total (LT), largura do limbo foliar (LL), largura da nervura central (LN), massa seca total (MST), massa seca do limbo foliar (MSL), massa seca da nervura central (MSN), área foliar específica (AFE); anatômicas: esclerênquima (ESC), bainha parenquimática dos feixes + tecido vascular (FV), mesofilo (MES) e epiderme total (EpiT); e de valor nutritivo: proteína bruta (PB), digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e matéria mineral (MM) de lâminas foliares de capim-elefante cv. Napier. Os pontos representam os fitômeros com seus respectivos segmentos e as setas representam o vetor para cada variável

Figura 21. Biplot para características morfológicas: comprimento da folha (CF), comprimento do segmento (CS), largura total (LT), largura do limbo foliar (LL), largura da nervura central (LN), massa seca total (MST), massa seca do limbo foliar (MSL), massa seca da nervura central (MSN), área foliar específica (AFE); anatômicas: esclerênquima (ESC), bainha parenquimática dos feixes + tecido vascular (FV), mesofilo (MES) e epiderme total (EpiT); e de valor nutritivo: proteína bruta (PB), digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e matéria mineral (MM) de lâminas foliares de capim-elefante cv. Napier. Os pontos representam os fitômeros com seus respectivos segmentos e as setas representam o vetor para cada variável

4.4.2. Análise de agrupamento (*Cluster*)

De maneira geral, a análise de agrupamento gerou resultados semelhantes àqueles da análise de componentes principais. Analisando o dendograma da esquerda para a direita e inserindo um corte de aproximadamente 0,60, foi possível identificar 5 grupos bem definidos de clusters baseados nas somas dos quadrados usando o método de associação média (UPGMA), segundo o qual os grupos foram ligados pela média de similaridade entre seus elementos. Os clusters 1 e 3 foram compostos por fitômeros menores (quadrante 3, PC1 $\times$ PC2); o cluster 2 agrupou os segmentos próximos à base das folhas 11 a 16 (quadrante 4, PC1 $\times$ PC2); o cluster 4 foi referente às frações medianas (quadrante 1, PC1 $\times$ PC2) e o cluster 5 às frações apicais (quadrante 2, PC1 $\times$ PC2), ambos dos fitômeros mais longos (Figura 22).

Figura 22. Dendrograma de agrupamento contendo segmentos de lâminas foliares de diferentes níveis de inserção em perfílos de capim-elefante cv. Napier

5. DISCUSSÃO

Os dados relativos às características morfológicas revelaram que as lâminas foliares apresentaram um padrão comum de desenvolvimento, mesmo com variações em largura e comprimento final das folhas, que são inerentes à sua ordem de inserção no perfilho. O formato de lança foi caracterizado, aproximadamente, a partir dos últimos 30% do comprimento da lâmina foliar (região apical). A lâmina foliar de gramíneas, normalmente, é linear ou lanceolada, com nervuras paralelas características, estreita em relação ao seu comprimento, alongada, laminada e achatada (Gibson, 2009). Dessa forma, o padrão comum de desenvolvimento observado no presente estudo pode ocorrer de forma análoga em outras gramíneas forrageiras.

A relação linear altamente significativa entre massa total da nervura central e massa total da lâmina foliar demonstrou a relação direta entre o tamanho da folha e tamanho da nervura central (Figura 16). Quanto maior foi o tamanho final da folha, maior foi seu nível de inserção no perfilho, visto que ainda não estava ocorrendo o alongamento dos entrenós, e maiores valores de massa seca total de lâmina foliar e massa seca total de nervura central foram registrados. O aumento da porcentagem de nervura central associado ao aumento no comprimento total da lâmina foliar de acordo com seu nível de inserção no perfilho (Tabela 3), principalmente em sua porção basal (Figura 15), pode ter sido consequência da maior necessidade de suporte estrutural para manter a conformação ereta das folhas com apropriado ângulo foliar para interceptação de luz (Taiz e Zeiger, 2013).

Gramíneas de clima tropical geralmente apresentam suporte estrutural adicional fornecido pela nervura central da lâmina foliar (Wilson, 1993, 1997). A nervura central é a principal nervura das folhas e, apesar de sua participação ser relativamente pequena (6 a 13% da área da seção transversal), pode compreender de 18 a 28% do peso da lâmina foliar e conter 14 a 24% dos tecidos lignificados (Congio et al., 2018; Wilson, 1993). Proporções maiores de nervura central foram obtidas no presente estudo (30 a 41% do peso da lâmina foliar), provavelmente em razão da morfologia e porte do capim-elefante relativamente às plantas utilizadas em estudos anteriores. Apesar dos fitômeros apresentarem tamanhos diferentes, as maiores proporções de nervura central sempre foram registradas nas porções basais (segmentos 1 e 2) das lâminas foliares (11,6; 48,6 e 94,5 mg de massa seca de nervura central no segmento basal (1) referentes aos fitômeros 8; 12 e 16, respectivamente), com valores muito baixos registrados nos segmentos próximos ao ápice foliar (0,4; 1,0 e 2,1 mg de massa seca de nervura central no segmento apical (10) referentes aos fitômeros 8; 12 e 16, respectivamente).

No tocante à composição anatômica dos tecidos foliares, trabalhos na literatura fazem alusão ao gradiente existente nas folhas ao longo do perfilho. (Wilson, 1976b) trabalhou com *Panicum maximum* var. *trichoglume* e registrou gradiente nas proporções dos tecidos das folhas ao longo do perfilho. (Paciullo et al., 2002), de forma análoga, também registrou mudanças na proporção de tecidos anatômicos das lâminas foliares conforme seu nível de inserção no perfilho, com lâminas

foliares de mais alto nível de inserção apresentando maior porcentagem de tecidos de sustentação e células com paredes mais espessas que lâminas foliares da base do perfilho. Segundo (Wilson, 1976b), a variação na anatomia da folha com o nível de inserção é um fenômeno inerente ao desenvolvimento do perfilho e, provavelmente, se expresse em grande parte das gramíneas.

No entanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar variações anatômicas ao longo de todo o comprimento de cada lâmina foliar do perfilho e não somente na fração mediana da folha, como é tradicionalmente feito na maioria dos trabalhos disponíveis na literatura e que visam comparar diferenças entre folhas de diferentes níveis de inserção no perfilho apenas. Assim, além de constatar o gradiente nas proporções dos tecidos anatômicos ao longo de sucessivas folhas do perfilho, foi possível identificar também qual foi sua distribuição ao longo de todo o comprimento de cada uma das lâminas foliares de diferentes níveis de inserção no perfilho. Os resultados indicaram pequeno gradiente nos teores de mesofilo da base para o ápice foliar, com variação média de 8%, ou seja, a região mais espessa da folha, em razão da maior proporção de nervura central, apresentou maior valor de mesofilo (Figura 18a). As maiores porcentagens de esclerênquima também foram registradas nas frações próximas à base das folhas, fornecendo maior resistência e sustentação para essas regiões (segmentos 1 e 2, Figura 18b). Segundo Rezvani Moghaddam e Wilman (1998) e Vincent (1991), essas células são importantes para dar suporte ao crescimento ereto das lâminas foliares, juntamente com as de xilema, principalmente em ambientes quentes e secos. Com relação à bainha parenquimática dos feixes e tecidos vasculares, maiores porcentagens foram encontradas na região mediana das folhas ou próximas a ela (Figura 18c), possivelmente por serem regiões de maior largura do limbo foliar e de menor proporção de nervura central relativamente à região basal da lâmina foliar. Portanto, apesar do pequeno gradiente de variação, foi possível identificar relativa estabilidade na distribuição dos tecidos anatômicos ao longo do comprimento das lâminas foliares de diferentes níveis de inserção no perfilho, ou seja, o mesmo padrão de distribuição foi registrado para todos os fitômeros, independentemente do seu nível de inserção no perfilho.

As respostas relativas às variáveis anatômicas referentes à idade da planta (quando a colheita de todas as folhas foi realizada somente após a expansão da 16ª folha) foram, de maneira geral, muito semelhantes àquelas obtidas para folhas recém-expandidas (folhas colhidas individualmente logo que completavam sua expansão) (Figura 19). Isso se deve certamente ao fato de que após a completa expansão das folhas sua composição anatômica está definida e não muda com o tempo, fazendo com que a contribuição relativa de cada tecido na lâmina foliar não se altere com a idade da folha (Akin e Burdick, 1975; Cherney e Marten, 1982; Wilson, 1976b).

Trabalhos na literatura relatam que são pequenos os efeitos da idade e de fatores climáticos sobre a proporção de tecidos anatômicos nas lâminas foliares (Queiroz et al., 2000; Wilson et al., 1991). (Wilson, 1976b), em estudo com *Panicum maximum* var. *trichoglume*, reportou que o aumento

da idade da folha não resultou em alteração da proporção dos diferentes tecidos anatômicos, apesar de resultar em aumento da espessura da parede das células do esclerênquima, principalmente em bainhas foliares situadas na posição superior dos perfilhos. Em trabalhos com capim-gordura, capim-braquiária e capim-tifton 85 também não foi registrada variação na proporção de tecidos na lâmina foliar após sua completa expansão (Paciullo et al., 2002).

Com relação ao valor nutritivo foi possível verificar claramente a influência da nervura central na DIVMS e na PB ao longo do comprimento das lâminas foliares, pois quando a mesma foi excluída das avaliações (anatomia foliar), nenhuma mudança que justificasse as diferenças em valor nutritivo foi observada. Segundo Wilson et al. (1983), muitas das variações observadas em digestibilidade entre espécies C_4 devem ocorrer não em função da quantidade de cada tipo de tecido, mas a partir da facilidade e da extensão final da digestão dos vários tecidos como mesofilo, bainha parenquimática dos feixes e esclerênquima.

Dessa forma, reduções nas porcentagens de DIVMS no segmento basal (segmento 1) do fitômero 11, nos segmentos basal e mediano-basal (segmentos 1 e 2, respectivamente) dos fitômeros 12, 13, 14 e 15 e nos segmentos basal, mediano-basal e mediano (segmentos 1, 2 e 3, respectivamente) do fitômero 16, possivelmente foram consequência da elevada proporção de nervura central nessas porções da lâmina foliar (Tabela 7). A função de suporte estrutural fornecido à lâmina foliar pela nervura central é realizada, principalmente, pelo tecido vascular (xilema) e pelo esclerênquima (Wilson, 1997). Esses tecidos são formados por células de parede secundária espessada e são os que mais contribuem para a baixa qualidade da forragem (Akin, 1989; Wilson, 1993), pois formam um sólido bloco multicelular no interior do rúmen, resultando em partículas de grande tamanho, que são muito pouco digeridas em razão da lignificação e problemas na acessibilidade dos microrganismos do rúmen à superfície da parede celular (Akin, 1989; Wilson e Mertens, 1995). Como a nervura central contém, geralmente, maiores porcentagens de tecido vascular e esclerênquima, apresenta digestibilidade consideravelmente menor do que o limbo foliar (Struik, 1985; Wheeler et al., 1984). Dessa forma, os segmentos próximos à base das folhas de maior nível de inserção no perfilho, por apresentarem maior proporção de nervura central, apresentaram menor digestibilidade mesmo contendo maior porcentagem de mesofilo, considerado um dos tecidos de mais rápida digestão (Akin et al., 1973).

Apesar das folhas 8, 9, 10 e 11 apresentarem menor digestibilidade nas porções apicais, a DIVMS média obtida na folha inteira para esses fitômeros foi 82,22; 83,05; 82,08 e 82,12%, respectivamente. Para os fitômeros de maior nível de inserção no perfilho (12, 13, 14, 15 e 16), a DIVMS média dos segmentos mediano, mediano-apical e apical (segmentos 3, 4 e 5, respectivamente) foi 82,71; 82,24; 82,63; 82,68 e 82,82%, respectivamente, ou seja, valores muito semelhantes àqueles dos fitômeros de menor inserção no perfilho, mesmo estes sendo mais velhos. A redução em DIVMS do segmento apical das folhas 8, 9, 10 e 11 pode ter sido consequência do estágio avançado de

amadurecimento dessas folhas, já que o estágio de desenvolvimento é o fator mais importante a influenciar o valor nutritivo de gramíneas forrageiras (Buxton e Fales, 1994). O segmento apical das lâminas foliares referentes ao fitômero 8 e uma parte das lâminas foliares referentes ao fitômero 9 apresentaram sinais evidentes de senescência, como amarelecimento, escurecimento e degeneração dos tecidos. Por sua vez, os fitômeros 5, 6 e 7 se encontravam totalmente senescidos por ocasião da colheita ao final da expansão da 16ª folha.

Segundo Taiz et al., (2017), à medida que novas folhas são iniciadas no meristema apical, as folhas mais velhas posicionadas abaixo podem se tornar sombreadas e perder a capacidade de funcionar de maneira eficiente na fotossíntese, desencadeando a sua senescência. Durante a senescência, enzimas hidrolíticas participam da decomposição de proteínas celulares, carboidratos e ácidos nucleicos. Os açúcares, os nucleosídeos e os aminoácidos são, então, transportados de volta para dentro do corpo principal da planta via floema e redirecionados para novos processos de síntese. O progressivo amarelecimento, e eventualmente escurecimento (cor marrom), e a desidratação são os primeiros sinais visíveis de senescência. Nos estádios iniciais desse processo, parte dos constituintes celulares é mobilizada e redistribuída, mas a maioria é usada na própria respiração do órgão senescente (Hodgson, 1990). Geralmente existe um gradiente de senescência a partir das folhas mais jovens, localizadas próximo às extremidades em crescimento, até as folhas mais velhas, localizadas próximo à base do colmo (Taiz et al., 2017). Dessa forma, o processo de senescência se inicia no ápice da folha, que é a parte mais velha, e se estende para a base (Langer, 1963) e dos fitômeros de mais baixos níveis de inserção no perfilho (mais velhos) para os fitômeros de níveis mais altos de inserção (mais jovens). Portanto, desconsiderando os tecidos que estavam em estágio de senescência, foi possível verificar o impacto negativo da nervura central sobre a digestibilidade das lâminas foliares.

Com relação à %PB, o maior valor foi registrado no segmento apical (segmento 5) do fitômero 16 (Tabela 8), não diferindo dos segmentos que apresentaram menores proporções de nervura central e maiores valores de área foliar específica (AFE). Esses resultados estão de acordo com de (Lucena et al., 2017), que identificou correlações positivas entre %PB e AFE ($r = 0,52$; $P = 0,0010$) em lâminas foliares de *Paspalum* spp. A diferença observada no segmento 5 do fitômero 10, pode ter sido em razão do amadurecimento da folha, assim como em todos os segmentos dos fitômeros 8 e 9, visto que o avanço na idade da folha resulta em incremento nos componentes de parede celular, aumento dos teores de fibra e queda nos coeficientes de digestibilidade e nos teores de proteína bruta (Paciullo, 2002; Rezvani Moghaddam e Wilman, 1998). Sanchês, (2017) registrou declínio no teor de PB em capim-elefante à medida que a planta amadureceu (39,84% dos 30 aos 90 dias de corte), em razão da redução no conteúdo celular e, conseqüentemente, na porcentagem de PB. O autor relatou que com o aumento da maturidade da planta ocorre, de forma natural, diminuição em constituintes como proteína bruta e hemicelulose e aumento de outros componentes como massa seca, fibra e lignina, resultando em perdas quantitativas e qualitativas para a forragem. A proteína, seguida da

energia, é o nutriente mais exigido pelos ruminantes. A proteína é o segundo nutriente mais exigido pelos ruminantes. Mesmo o menor valor de %PB registrado neste presente estudo (11%) esteve bem acima do mínimo de 7% indicado como necessário para assegurar adequada fermentação ruminal (Church, 1988). Assim como para a DIVMS, a presença da nervura central apresentou impacto negativo sobre a %PB, possivelmente por reduzir a proporção de limbo foliar, onde estão presentes os tecidos que contém maiores concentrações de nitrogênio como o mesofilo e a bainha parenquimática dos feixes vasculares.

A argumentação apresentada acima pode ser confirmada a partir dos resultados das análises multivariadas de agrupamento (Cluster) e de componentes principais (PCA) realizadas, que agruparam e classificaram os fitômeros de acordo com seu nível de inserção no perfilho e aporte estrutural (comprimento das folhas associado à proporção de nervura central ao longo da lâmina foliar), relacionando suas características morfológicas, anatômicas e de valor nutritivo. Na interpretação dos *biplots* gerados na PCA, os quadrantes são inversamente correlacionados (vetores em direções opostas). Quanto maior o tamanho das setas (vetores), maior a variação nos dados, e quanto mais próximos encontram-se os vetores, maior relação existe entre eles (Figuras 20 e 21). Dessa forma, as frações basais das lâminas foliares de maior nível de inserção no perfilho foram caracterizadas por variáveis de aporte estrutural (ESC; MSN e LN), corroborando com os dados morfológicos (maior proporção de NC). Adicionalmente, estiveram associadas a altas porcentagens de mesofilo, provavelmente por serem folhas mais espessas (menor área foliar específica) e, conseqüentemente, de menor valor nutritivo (Figura 20, quadrante 4). De maneira geral, a literatura indica que a área foliar específica está diretamente relacionada à anatomia foliar, de forma que elevados valores de AFE estão associados com cutículas e epidermes mais delgadas e menor espessura de mesofilo (Benincasa, 2003; Berlyn e Cho, 2000). As frações medianas das lâminas foliares caracterizaram a região de maior largura das folhas, conseqüentemente com maior concentração de feixes vasculares em razão desses segmentos apresentarem a maior proporção de limbo foliar ao longo de todo o comprimento da lâmina foliar (Figura 20, quadrante 1). Já as frações apicais foram mais delgadas, apresentando maiores valores de AFE e maior valor nutritivo, possivelmente por apresentarem baixa proporção de nervura central (Figura 20, quadrante 3).

De maneira geral, as folhas de menor nível de inserção no perfilho, folhas menores, porém mais velhas, foram caracterizadas pelas variáveis de valor nutritivo (DIVMS, PB e MM), EpiT e AFE. Apesar das epidermes de gramíneas tropicais serem consideradas de digestão lenta e parcial (Akin, 1989), (Wilson et al., 1983) relataram que para a maioria das espécies de *Panicum* as células epidérmicas foram rapidamente e extensivamente degradadas, porém, correlações significativas entre digestibilidade e porcentagem de epiderme não foram encontradas. No entanto, no presente estudo, esta variável ficou associada com regiões de melhor valor nutritivo.

As características atribuídas aos fitômeros menores revelaram que a proporção de nervura central, que nessas folhas é pequena, tem forte impacto no valor nutritivo, em especial sobre a digestibilidade, em relação à anatomia foliar, uma vez que com o avanço da maturidade da folha não ocorrem variações nas proporções de tecidos anatômicos (Wilson, 1997).

6. CONCLUSÃO

- Lâminas foliares de capim-elefante apresentam padrão comum de crescimento independente do seu tamanho e nível de inserção no perfilho;
- O valor nutritivo da lâmina foliar é função da proporção de nervura central nela existente;
- As porções finais de folhas grandes possuem valor nutritivo semelhante àquele de folhas pequenas, independente da idade cronológica e fisiológica das folhas.

REFERÊNCIAS

- Akin, D. E. (1989). Histological and Physical Factors Affecting Digestibility of Forages. *Agronomy Journal* 81, 17. doi:10.2134/agronj1989.00021962008100010004x.
- Akin, D. E., Amos, H. E., Barton, F. E., e Burdick, D. (1973). Rumen microbial degradation of grass tissue revealed by scanning electron microscopy. *Agronomy Journal* 65, 825–828. doi:10.2134/agronj1973.00021962006500050045x.
- Akin, D. E., e Burdick, D. (1975). Percentage of Tissue Types in Tropical and Temperate Grass Leaf Blades and Degradation of Tissues by Rumen Microorganisms. *Crop Science* 15, 661–668.
- Akin, D. E., Wilson, J. R., e Windham, W. R. (1983). Site and Rate of Tissue Digestion in Leaves of C₃, C₄, and C₃/C₄ Intermediate *Panicum* Species. *Crop Science* 23, 147–155. doi:10.2135/cropsci1983.0011183X002300010042x.
- Allen, R. G., Pereira, L. S., Raes, D., e Smith, M. (1998). *Crop evapotranspiration - Guidelines for computing crop water requirements - FAO Irrigation and drainage paper 56*. Rome: FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Alquini, Y., Bona, C., Boeger, M. R. T., Costa, C. G. d., e Barros, C. F. (2003). “Epiderme”, in *Anatomia Vegetal*, orgs. B. Appezato-da-Glória e S. M. Carneiro-Guerreiro (Viçosa: UFV), 88–107.
- Basso, K. C., e Barbero, L. M. (2015). Anatomia foliar de forrageiras e a sua relação com o valor nutritivo. *Veterinária Notícias* 21, 1–10.
- Batistoti, C., Lempp, B., Jank, L., Morais, M. das G., Cubas, A. C., Gomes, R. A., et al. (2012). Correlations among anatomical, morphological, chemical and agronomic characteristics of leaf blades in *Panicum maximum* genotypes. *Animal Feed Science and Technology* 171, 173–180. doi:10.1016/j.anifeedsci.2011.11.008.
- Benincasa, M. M. P. (2003). “Análise de crescimento de plantas (noções básicas)”, in *Departamento de biologia aplicada à agropecuária* (Jaboticabal: FCAV-UNESP), 02–06.
- Berlyn, G. P., e Cho, J. (2000). “Light, moisture, and nutrient use by plants”, in *The silvicultural basis for agroforestry systems*, orgs. F. Montagnini e M. S. Ashton (Boca Raton: CRC Press), 09–39.
- Black, C. C. (1971). Ecological Implications of dividing Plants into Groups with Distinct Photosynthetic Production Capacities. *Advances in Ecological Research* 7, 87–114. doi:10.1016/S0065-2504(08)60203-2.
- Briske, D. D., e Richards, J. H. (1996). *Plant responses to defoliation: A physiological, morphological and demographic evaluation*. doi:10.1016/j.jcrysgro.2006.03.060.
- Brito, C. J. F. A. de, e Deschamps, F. C. (2001). Caracterização anatômica em diferentes frações de cultivares de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.). *Revista Brasileira de Zootecnia* 30, 1409–1417. doi:10.1590/S1516-35982001000600004.

- Brito, C. J. F. A. de, Rodella, R. A., Deschamps, F. C., e Alquini, Y. (1999). Anatomia Quantitativa e Degradação *in vitro* de Tecidos em Cultivares de Capim-Elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.). *Revista Brasileira de Zootecnia* 28, 223–229. doi:10.1007/BF03366367.
- Buxton, D. R., e Fales, S. L. (1994). “Plant environment and quality”, in *Forage quality, evaluation, and utilization* (Lincoln: University of Nebraska), 155–199.
- Cano, C. C. P., Cacecato, U., Canto, M. W., Santos, G. T., Galbeiro, S., Martins, E. N., et al. (2004). Valor Nutritivo do Capim-Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia-1) Pastejado em Diferentes Alturas. *Revista Brasileira de Zootecnia* 33, 1959–1968.
- Cheng, K. J., Fay, J. P., Howarth, R. E., e Costerton, J. W. (1980). Sequence of events in the digestion of fresh legume leaves by rumen bacteria. *Applied and environmental microbiology* 40, 613–625.
- Cherney, J. H., e Marten, G. C. (1982). Small Grain Crop Forage Potential: II. Interrelationships Among Biological, Chemical, Morphological, and Anatomical Determinants of Quality. *Crop Science* 22, 227. doi:10.2135/cropsci1982.0011183X002200020007x.
- Church, D. C. (1988). *The ruminant animal digestive physiology and nutrition*. New Jersey: Prentice Hall.
- Congio, G. F. S., Batalha, C. D. A., Chiavegato, M. B., Berndt, A., Oliveira, P. P. A., Frighetto, R. T. S., et al. (2018). Strategic grazing management towards sustainable intensification at tropical pasture-based dairy systems. *Science of the Total Environment* 636, 872–880. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.04.301.
- Cóser, A. C., Martins, C. E., e Cruz Filho, A. D. (1999). *Manejo correto de uma capineira de capim-elefante*. Rio de Janeiro: A Lavoura.
- Dankin, M. E., e Hussey, R. S. (1985). “Staining and histopathological techniques in nematology”, in *An Advanced treatise on Meloidogyne*, orgs. K. R. Barker, C. C. Carter, e J. N. Sasser (Raleigh: North Carolina State University), 39–48.
- Duru, M., e Ducrocq, H. (2000). Growth and senescence of the successive grass leaves on a tiller. Ontogenic development and effect of temperature. *Annals of Botany* 85, 635–643. doi:10.1006/anbo.2000.1116.
- EMBRAPA (2006). *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*. Rio de Janeiro: Embrapa Solos.
- Esau, K. (1977). *Anatomy of seed plants*. 2º ed New York: John Wiley & Sons.
- Fick, G. W., e Clark, E. A. (1998). “The future of grass for dairy cattle”, in *Grass for Dairy Cattle*, orgs. J. H. Cherney e D. J. R. Cherney (Wallingford, UK: CAB International), 01-22.
- Geremia, E. V., Pereira, L. E., Paiva, A. J., Oliveira, L. P., e Silva, S. C. (2014). Intake rate and nutritive value of elephant grass cv. napier subjected to strategies of rotational stocking management. *Tropical grasslands - forrajes tropicales* 2, 51–52. doi:10.17138/TGFT(2)51-52.
- Gibson, D. J. (2009). *GRASSES & GRASSLAND ECOLOGY*. 5º ed New York: Oxford University Press.

- Gomes, R. A., Lempp, B., Jank, L., Carpejani, G. C., e Morais, M. da G. (2011). Características anatômicas e morfofisiológicas de lâminas foliares de genótipos de *Panicum maximum*. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 46, 205–211. doi:10.1590/S0100-204X2011000200013.
- Gomide, J. A. (1997). Morfogênese e análise de crescimento de gramíneas tropicais. in *SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO* (Viçosa: UFV), 411–429.
- Gomide, J. A., e Gomide, C. A. M. (1999). Fundamentos e estratégias do manejo de pastagens. in *Simpósio de produção de gado de corte* (Viçosa: UFV), 179–200.
- Granato, L. O. (1924). *O capim-elefante (Pennisetum purpureum Schum.)*. São Paulo: Secretaria de Agricultura.
- Hagquist, C. W. (1974). Preparation and Care of Microscope Slides. *The American Biology Teacher* 36, 414–417.
- Hanna, W. W., Monson, W. G., e Burton, G. W. (1973). Histological Examination of Fresh Forage Leaves After *in vitro* Digestion. *Crop Science* 13, 98–102. doi:10.2135/cropsci1973.0011183X001300010031x.
- Harbers, L. H., Brazle, F. K., Raiten, D. J., e Owensby, C. E. (1981). Microbial degradation os smooth brome and tall fescue observed by scanning electron microscopy. *Journal of Animal Science* 51, 439–446.
- Hodgson, J. (1990). *Grazing management: Science into practice*. London, UK: Longman Handbooks in Agriculture.
- Jauhar, P. P. (1981). *Cytogenetics and breeding of pearl millet and related species*. New York: Alan R. Liss.
- Jenks, M. A., Joly, R. J., Peters, P. J., Rich, P. J., Axtell, J. D., e Ashworth, E. N. (1994). Chemically induced cuticle mutation affecting epidermal conductance to water vapor and disease susceptibility in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Plant Physiology* 105, 1239–1245. doi:105/4/1239 [pii].
- Johansen, D. A. (1940). *Plant microtechnique*. New York: Mc Graw - Hill Book Co. Inc.
- Langer, R. H. M. (1963). “Tillering in herbage grasses”, in *Herbage abstracts*, 141–148.
- Langer, R. H. M. (1972). *How grass grow*. London, UK: The Institute of Biology’s Studies.
- Lemaire, G., e Chapman, D. (1996). “Tissue fluxes in grazing plant communities”, in *The ecology and management of grazing systems*, orgs. J. Hodgson e A. W. Illius (Wallingford, UK: CAB International), 3–36.
- Lempp, B. (2007). Avanços metodológicos da microscopia na avaliação de alimentos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36, 315–329. doi:10.1590/S1516-35982007001000029.
- Lempp, B. (2013). “Anatômica de plantas forrageiras”, in *Forragicultura: ciência, tecnologia e gestão dos recursos forrageiros*, orgs. R. A. Reis, T. F. Bernardes, e G. R. Siqueira (Jaboticabal: FUNEP), 15–30.

- Lempp, B., Ezequiel, J. M. B., Santos, J. M., Filho, C. F. D., Figueiredo, L. F. C., Favoretto, V., et al. (1997). Observação da estrutura girder na taxa de digestão dos tecidos em lâminas de *Panicum maximum* Jacq. cv. aruana e vencedor. in *34ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA* (Juiz de Fora, MG: SBZ), 12–14.
- Lempp, B., Ezequiel, J. M. B., Santos, J. M., Filho, C. F. D., Zimmer, A. H., Favoretto, V., et al. (1998). Observação da taxa de digestão das células de mesofilo de duas cultivares de *Panicum maximum* Jacq., águas e seca. in *35ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA* (Botucatu, SP: SBZ), 269–271.
- Lucena, K. C. de, Gisele, C., e Lempp, B. (2017). Características morfológicas e químicas de lâminas foliares de *Paspalum* spp. *revista de biologia neotropical* 14, 1–10.
- Lyons, R., Machen, R., e Forbes, T. (1999). Understanding Forage Intake in Range Animals. 1–6. Available at: <http://extensionenespanol.net/pubs/15152.pdf>.
- Mabjeesh, S. J., Cohen, M., e Arieli, A. (2000). *In Vitro* Methods for Measuring the Dry Matter Digestibility of Ruminant Feedstuffs: Comparison of Methods and Inoculum Source. *Journal of Dairy Science* 83, 2289–2294. doi:10.3168/jds.S0022-0302(00)75115-0.
- MacAdam, J. W., Kerley, M. S., Piwonka, E. J., e Sisson, D. W. (1996). Tiller development influences seasonal change in cell wall digestibility of big bluestem (*Andropogon gerardii*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 70, 79–88. doi:10.1002/(SICI)1097-0010(199601)70:1<79::AID-JSFA469>3.0.CO;2-0.
- MacAdam, J. W., e Mayland, H. F. (2003). The relationship of leaf strength to cattle preference in tall fescue cultivars. *Agronomy Journal* 95, 414–419. doi:10.2134/agronj2003.0414.
- Masaoka, Y., Wilson, J. R., e Hacker, J. B. (1991). Selecting for nutritive value in *Digitaria milaniana* 3. Relation of chemical composition and morphological and anatomical characteristics to the difference in digestibility of divergently selected full sibs, and comparison with *D. eriantha* ssp. *pentzii* (. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 31, 631–638.
- McMaster, G. S. (2005). Phytomers, phyllochrons, phenology and temperate cereal development. *Journal of Agricultural Science* 143, 137–150. doi:10.1017/S0021859605005083.
- Menezes, N. L., Silva, D. da D., e Pinna, G. F. de A. M. (2003). “Folha”, in *Anatomia Vegetal*, orgs. B. Apezato-da-Glória e S. M. Carneiro-Guerreiro (Viçosa: UFV), 303–325.
- Mertens, D. R. (1994). 11. Regulation of forage intake. *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*, 450–493. doi:10.2134/1994.foragequality.c11.
- Minson, D. J. (1990). *Forage in ruminant nutrition*. San Diego: Academic Press.
- Moore, K. J., e Moser, L. E. (1995). Quantifying Developmental Morphology of *Perennial Grasses*. *Crop Science* 35, 37–43. doi:10.2135/cropsci1995.0011183X003500010007x.
- Moulia, B., e Fournier, M. (1997). Mechanics of the maize leaf: A composite beam model of the midrib. *Journal of Materials Science* 32, 2771–2780. doi:10.1023/A:1018604012754.

- Nelson, C. J. (2000). "Shoot morphological plasticity of grasses: leaf growth vs. tillering", in *Grassland ecophysiology and grazing ecology*, eds. G. Lemaire, J. Hodgson, A. Moraes, P. F. Carvalho, e C. Nabinger (Wallingford, UK: CABI Publishing), 101–126.
- Niklas, K. J. (1999). A mechanical perspective on foliage leaf form and function. *New Phytologist* 143, 19–31.
- Paciullo, D. S. C. (2002). Características Anatômicas Relacionadas Ao Valor Nutritivo De Gramíneas Forrageiras. *Ciência Rural* 32, 357–364. doi:10.1590/S0103-84782002000200029.
- Paciullo, D. S. C., Gomide, J. A., Queiroz, D. S., e Silva, E. A. M. da (2001). Correlações entre Componentes Anatômicos, Químicos e Digestibilidade In Vitro da Matéria Seca de Gramíneas Forrageiras. *Revista Brasileira de Zootecnia* 30, 955–963.
- Paciullo, D. S. C., Gomide, J. A., SILVA, E. da, Queiroz, D. S., e Gomide, C. A. M. (2002). Degradação *in vitro* de tecidos da lâmina foliar e do colmo de gramíneas forrageiras tropicais, em função do estágio de desenvolvimento. *Revista Brasileira de Zootecnia* 31, 900–907. doi:10.1590/S1516-35982002000400013.
- Pedreira, C. G. S., Mello, A. C. L., e Otani, L. (2001). O processo de produção de forragem em pastagens. in *38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia* (Piracicaba: FEALQ), 772–807.
- Pereira, L. E. T., Paiva, A. J., Geremia, E. V., e Da Silva, S. C. (2013a). Components of herbage accumulation in elephant grass cvar Napier subjected to strategies of intermittent stocking management. *Journal of Agricultural Science* 152, 954–966. doi:10.1017/S0021859613000695.
- Pereira, L. E. T., Paiva, A. J., Geremia, E. V., e Da Silva, S. C. (2013b). Regrowth patterns of elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum) subjected to strategies of intermittent stocking management. *Grass and Forage Science* 70, 195–204. doi:10.1111/gfs.12103.
- Pereira, L. E. T., Paiva, A. J., Geremia, E. V., e Silva, S. C. da (2014). Grazing management and tussock distribution in elephant grass. *Grass and Forage Science* 70, 406–417. doi:10.1111/gfs.12137.
- Pereira, A. Vander, Auad, A. M., Lédo, F. J. da S., e Barbosa, S. (2010). "*Pennisetum purpureum*", in *PLANTAS FORRAGEIRAS*, eds. D. M. da Fonseca e J. A. Martuscello (Viçosa: Editora UFV), 197–219.
- Poppi, D. P., Hughes, T. P., e L'Huillier, P. J. (1987). "Intake os pasture by grazing ruminants", in *Livestock Feeding on Pasture* (Hamilton, NZ: New Zealand Society of Animal Production), 55–63.
- Pyke, K. A., Marrison, J. L., e Leech, A. M. (1991). Temporal and spatial development of the cells of the expanding first leaf of *Arabidopsis thaliana* (L.) heynh. *Journal of Experimental Botany* 42, 1407–1416. doi:10.1093/jxb/42.11.1407.

- Queiroz, D. S., Gomide, J. A., e Maria, J. (2000). Avaliação da Folha e do Colmo de Topo e Base de Perfilhos de Três Gramíneas Forrageiras. 1. Digestibilidade in vitro e Composição Química. *Revista Brasileira de Zootecnia* 29, 53–60.
- Reid, R. L. (1994). “Milestone in forage research”, in *Forage quality, evaluation, and utilization*, org. G. C. Fahey (Madison: American Society of Agronomy, Crop Sci. Society of America, Soil Sci. Society of America), 1–58.
- Reis, R. A., Melo, G. M. P., Bertipaglia, L. M. A., e Oliveira, A. P. (2005). “Otimização da utilização da forragem disponível através da suplementação estratégica”, in *Volumosos na produção de ruminantes*, orgs. R. A. Reis, G. R. Siqueira, L. M. A. Bertipaglia, A. P. Oliveira, e E. Al. (FUNEP), 187–238.
- Rezvani Moghaddam, P., e Wilman, D. (1998). Cell wall thickness and cell dimensions in plant parts of eight forage species. *Journal of Agricultural Science* 131, 59–67. doi:10.1017/S0021859698005632.
- Rodella, R. A., Ayoub, J. F., e Maimoni-Rodella, R. C. S. (1984). Estudos quantitativos de características anatômicas da folha de *Panicum maximum* Jacq. E *Panicum coloratum* L. *Revista de Agricultura* 59, 163–174.
- Sack, L., e Scoffoni, C. (2013). Leaf venation: Structure, function, development, evolution, ecology and applications in the past, present and future. *New Phytologist* 198, 983–1000. doi:10.1111/nph.12253.
- Sanchês, S. S. C. (2017). Características agronômicas, anatômicas e valor nutritivo do capim-elefante em diferentes idades de corte.
- Silva, D. J., e Queiroz, A. C. (2002). *Análise de Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos*. 3º ed Viçosa: UFV.
- Silva, G. P. (2018). Ontogenetic development of *Pennisetum purpureum* cv. Napier: consequences for grazing management.
- Skinner, R. H., e Nelson, C. J. (1995). Elongation of the Grass Leaf and its Relationship to the Phyllochron. *Crop Science* 35, 4–10. doi:10.2135/cropsci1995.0011183X003500010002x.
- Steeves, T. A., e Sussex, I. M. (1989). *Patterns in plant development*. 2º ed Cambridge, UK: University Press.
- Struik, P. C. (1985). Digestibility of plant fractions from different genotypes and the predictability of quality of forage maize in North-west Europe. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 33, 56–59.
- Taiz, L., e Zeiger, E. (2013). *Fisiologia Vegetal*. 3º ed Porto Alegre: Artmed.
- Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I. M., e Murphy, A. (2017). *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*. Porto Alegre: Artmed.

- Titgemeyer, E. C., Cochran, R. C., Towne, E. G., Armendariz, C. K., e Olson, K. C. (1996). Elucidation of Factors Associated with the Maturity-Related Decline in Degradability of Big Bluestem Cell Wall. *Journal of Animal Science* 74, 648–657. doi:10.2527/1996.743648x.
- Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional ecology of the ruminant*. 2º ed Ithaca: Comstock Publishing Associates.
- Vilela, H. (2005). *Pastagem: seleção de plantas forrageiras, implantação e adubação*. Viçosa: Aprenda Fácil.
- Vincent, J. F. V. (1991). Strength and fracture of grasses. *Journal of Materials Science* 26, 1947–1950. doi:10.1007/BF00543628.
- Wheeler, J. L., Hamilton, B. A., e Hedges, D. A. (1984). Effects of Sodium Fertilizer, Cultivar, Temperature and Growth Stage on the Mineral Content and Nutritive Value of Sorghum Forage. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 24, 565–570. doi:10.1071/EA9840565.
- Wilson, J. R. (1976a). Variation of Leaf Characteristics with Level of Insertion on a Grass Tiller. I Development Rate, Chemical composition and Dry Matter Digestibility. *Aust. J. Agric. Res.* 27, 343–354. doi:10.1071/AR9760343.
- Wilson, J. R. (1976b). Variation of leaf characteristics with level of insertion on a grass tiller.II. Anatomy. *Aust. J. Agric. Res.* 27, 355–364. doi:10.1071/AR9760343.
- Wilson, J. R. (1993). Organization of forage plant tissues. In *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*. Chapt. I, 2–32. doi:10.2134/1993.foragecellwall.c1.
- Wilson, J. R. (1997). Strutural and anatomical traits of forages influencing their nutritive value for ruminants. in *SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO*, org. UFV (Viçosa), 173–208.
- Wilson, J. R., Akin, D. E., McLeod, M. N., e Minson, D. J. (1989a). Particle size reduction of the leaves of a tropical and a temperate grass by cattle. *Grass and Forage Science* 44, 65–75. doi:10.1111/j.1365-2494.1989.tb01911.x.
- Wilson, J. R., Anderson, K. L., e Hacker, J. B. (1989b). Dry matter digestibility *in vitro* of leaf and stem of buffel grass (*Cenchrus ciliaris*) and related species and its relation to plant morphology and anatomy. *Australian Journal of Agricultural Research* 40, 281–291. doi:10.1071/AR9890281.
- Wilson, J. R., Brown, R. H., e Windham, W. R. (1983). Influence of Leaf Anatomy on the Dry Matter Digestibility of C₃, C₄, and C₃/C₄ Intermediate Types of *Panicum* Species1. *Crop Science* 23, 141. doi:10.2135/cropsci1983.0011183X002300010041x.
- Wilson, J. R., Deinum, B., e Engels, F. M. (1991). Temperature effects on anatomy and digestibility of leaf and stem of tropical and temperate forage species. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 39, 31–48.

- Wilson, J. R., e Mertens, D. R. (1995). Cell Wall Accessibility and Cell Structure Limitations to Microbial Digestion of Forage. *Crop Science* 35, 251. doi:10.2135/cropsci1995.0011183X003500010046x.
- Xavier, D. F., Botrel, M. A., Daher, R. F., Gomes, F. T., e Pereira, A. V. (1995). *Caracterização morfológica e agronômica de algumas cultivares de capim-elefante*. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL.