UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE PROGRAMA MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

QUANTIFICAÇÃO MORFOANATÔMICA DE LÂMINAS FOLIARES DE GENÓTIPOS DE Panicum maximum

Carla Batistoti Orientadora: Prof^a. Dr^a. Beatriz Lempp Co-orientadora: Dr^a. Liana Jank

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Programa Mestrado em Ciência Animal, como um dos pré-requisitos para a obtenção do título de mestre em Produção Animal.

Campo Grande MATO GROSSO DO SUL - BRASIL JANEIRO-2006

Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina Cora Coralina

A meus Pais

AGRADECIMENTOS

À minha família pelo apoio e compreensão.

A meu filho Pedro por ter sempre uma palavra de incentivo.

À orientadora Prof^a Dr^a. Beatriz Lempp, pelos ensinamentos e pela confiança em mim depositada, para realização do trabalho.

À Dra. Liana Jank pelo inestimável apoio.

Ao curso de Mestrado em Ciência Animal e em especial à Prof^a Dr^a Maria das Graças Morais pela dedicação, e à Marilete pela prestimosa ajuda.

Aos colegas de curso pelo companheirismo na jornada.

Agradecimento especial ao colega Marcus Vinícius Back Ferreira pelo apoio nas análises estatísticas.

À equipe do laboratório de forragicultura do Núcleo de Ciências Agrárias pela ajuda imprescindível, em especial a Elda B. de Azambuja Silva, Roberta Alves Gomes e Keila Cortez de Lucena.

Ao pessoal de apoio da Embrapa Gado de Corte, em especial ao Silvano, Amado, Gisele e a todos do Laboratório de Nutrição Animal.

Aos colegas de departamento Ernandes, Ezider e Júlio, que com compreensão e companheirismo, deram grande colaboração.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características químicas do solo da área experimental na camada de 0 a 20 cm de profundidade.
Tabela 2 Características químicas do solo da área experimental na camada de 0 a 20 cm e 20 a 40 cm de profundidade
Tabela 3. Dados meteorológicos do período experimental22
Tabela 4 Média do acúmulo de massa de genótipos de <i>Panicum maximum</i> , no período das águas com 35 dias, e na seca com 42 dias26
Tabela 5. Médias dos teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), digestibilidade (DIVMO) lignina (LIG), celulose (CEL) e sílica (SIL) de folha de genótipos de <i>Panicum maximum</i> , período das águas e da seca
Tabela 6. Médias dos teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), digestibilidade (DIVMO) lignina (LIG), celulose (CEL) e sílica (SIL) de colmo de genótipos de <i>Panicum maximum</i> , período das águas31
Tabela 7. Características morfofisiológicas de lâminas foliares: comprimento, largura, área folia (AF) e área foliar específica (AFE) de genótipos de <i>Panicum maximum</i> , no período das águas e da seca. ————————————————————————————————————
Tabela 8. Médias da proporção de tecidos: epiderme adaxial (EPIada), epiderme abaxia (EPIaba), tecido vascular (TV), bainha parenquimática dos feixes (BPF), esclerênquima (ESC) e mesofilo (MES) na seção transversal de fragmentos de lâminas foliares de genótipos de <i>Panicum maximum</i> , no período das águas e da seca
Tabela 9. Correlações canônicas e pares canônicos estimados entre as variáveis morfológicas comprimento de folha, largura de folha, área foliar e área foliar específica e anatômicas da forragem: epiderme adaxial (EPIada), epiderme abaxial (EPIaba), tecido vascular (TV), bainha parenquimática dos feixes (BPF), esclerênquima (ESC), mesofilo (MES) de lâminas foliares de genótipos de <i>Panicum maximum</i>
Tabela 10. Coeficientes de correlação linear entre proporção de tecidos e características morfofisiológicas de lâminas foliares de <i>Panicum maximum</i> 38
Tabela 11. Coeficientes de correlação linear entre composição química e proporção de tecidos de lâminas foliares de <i>Panicum maximum</i> 39

Tabela 12. Correlações canônicas e pares canônicos estimados entre as variáveis anatômicas da forragem: epiderme adaxial (EPIada), epiderme abaxial (EPIaba), tecido vascular (TV), bainha parenquimática dos feixes (BPF), esclerênquima (ESC), mesofilo (MES); e químicas da forragem: matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), digestibilidade (DIVMO) lignina em ácido sulfúrico (LIGs), lignina permanganato (LIGper), celulose (CEL) e sílica (SIL) de lâminas foliares de genótipos de <i>Panicum maximum</i> ———————————————————————————————————
Tabela 13. Coeficientes de correlação linear entre composição química e características morfofisiológicas de lâminas foliares de <i>Panicum maximum</i> 43
Tabela 14. Correlações canônicas e pares canônicos estimados entre as variáveis morfológicas: comprimento de folha, largura de folha, área foliar e área foliar específica e química da forragem: matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), digestibilidade (DIVMO) lignina em ácido sulfúrico (LIGs), lignina permanganato (LIGper), celulose (CEL) e sílica (SIL) de lâminas foliares de genótipos de <i>Panicum maximum</i>
Tabela 15. Correlações canônicas e pares canônicos estimados entre as variáveis químicas da forragem: matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), digestibilidade (DIVMO) lignina em ácido sulfúrico (LIGs), lignina permanganato (LIGper), celulose (CEL) e sílica (SIL); e agronômicas: MSV (matéria seca total) e MSVLF (matéria seca de lâmina foliar) de lâminas foliares de genótipos de <i>Panicum maximum</i> ———————————————————————————————————
Tabela 16. Coeficientes de correlação linear entre características agronômicas e características morfofisiológicas de lâminas foliares de <i>Panicum maximum</i>
Tabela 17. Correlações canônicas e pares canônicos estimados entre as variáveis morfológicas: comprimento de folha, largura de folha, área foliar e área foliar especifica e agronômicas: MST (matéria seca total) e MSVLF (matéria seca de lâmina foliar) de lâminas foliares de genótipos de <i>Panicum maximum</i>
Tabela 18. Correlações canônicas e pares canônicos estimados entre as variáveis anatômicas da forragem: epiderme adaxial (EPIada), epiderme abaxial (EPIaba), tecido vascular (TV), bainha parenquimática dos feixes (BPF), esclerênquima (ESC), mesofilo (MES) e agronômicas: MST (matéria seca total) e MSVLF (matéria seca de lâmina foliar) de lâminas foliares de genótipos de <i>Panicum maximum</i>
Tabela 19. Coeficientes de correlação linear entre caracteres agronômicos e proporção de tecidos de lâminas foliares de <i>Panicum maximum</i> 48

SUMÁRIO

	Página
1. CONSIDERAÇÕES GERAIS	9
REFERÊNCIA	14
ARTIGO	17
Quantificação morfoanatômica de lâminas foliares de genótipos de Panicum maximum	17
1. INTRODUÇÃO	19
2. MATERIAL E MÉTODOS	20
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.CONCLUSÕES	49
REFERÊNCIAS	50
APÊNDICES	55

CONSIDERAÇÕES GERAIS

A atividade de exploração da pecuária nacional depende quase que exclusivamente das forrageiras, as quais constituem a principal fonte de energia e nutrientes para o rebanho, de forma que a sua qualidade pode ser um fator limitante à produção e à eficiência dos sistemas de produção.

A maioria das gramíneas forrageiras utilizadas atualmente no Brasil foi introduzida acidentalmente ou intencionalmente, sendo originárias principalmente do continente africano. Essas introduções foram necessárias, pois as pastagens com gramíneas nativas possuem capacidade de suporte muito baixa, principalmente na época da seca, e valor nutritivo variável com as estações do ano.

Tendo como objetivo buscar genótipos de gramíneas forrageiras com alto potencial de produção, e de reconhecida adaptabilidade à maioria das nossas regiões pastoris, foi realizado um convênio entre a Embrapa Gado de Corte e o IRD (Institute de Reserche pour le Development antigo Orstom), por meio do qual, foi importada a coleção de *Panicum maximum*, uma das espécies de gramíneas forrageiras com alto potencial de produção e de boa adaptabilidade à maioria das nossas regiões.

Objetivando selecionar genótipos promissores e superiores aos já existentes, a Embrapa Gado de Corte elaborou um programa de seleção e melhoramento genético de *P. maximum*, que se iniciou com a avaliação de 156 acessos dos 426 introduzidos da coleção (Jank et al., 1989). Destes 156, os 25 melhores foram submetidos a uma Rede de Ensaio Nacional para serem avaliados, sendo posteriormente, selecionados sete genótipos para avaliação sob pastejo, culminando no lançamento das cultivares Tanzânia1 em 1990, Mombaça em 1993 (Jank, 1995) e Massai em 2001. Recentemente uma nova subcoleção de 22 genótipos foram avaliados em outra Rede de Ensaio Nacional.

As gramíneas tropicais são reconhecidamente de menor valor nutritivo em relação às temperadas. Entre os atributos da forragem que determinam a sua qualidade, destaca-se a sua composição em termos de componentes digestíveis ou fermentescíveis e o seu consumo pelos ruminantes. Em geral estas plantas possuem células especializadas que conferem a este grupo alta eficiência metabólica, sendo parcialmente associada ao modo fotossintético C₄.

A estrutura anatômica das lâminas, assim como seus tecidos específicos, individualmente (proporção na seção transversal) ou pela combinação entre estes, exercem forte influência sobre o valor nutricional das forrageiras. A relação entre a anatomia dos órgãos da planta e de seus tecidos, tem sido mostrada por meio de estudos histológicos, que pode ser um dos indicativos do valor qualitativo da forrageira em razão de mostrar a proporção de tecidos rapidamente digestíveis e indigestíveis.

Estudos avaliando a digestibilidade dos tecidos em forrageiras (gramíneas e leguminosas) têm sido desenvolvidos por diversos pesquisadores (Hanna et al., 1973; Wilson et al., 1983; Akin, 1989) e, no Brasil mais recentemente (Lempp et al., 1996, 1997 e 2004; Paciullo et al., 2002) dentre outros.

A organização estrutural da planta, ou anatomia dos órgãos e tecidos influencia o valor nutritivo, em razão do efeito na composição química da forragem, na facilidade de apreensão do material, na fragmentação de partículas durante a mastigação e ruminação, e conseqüentemente na taxa de passagem de partículas e aproveitamento da energia e proteínas digestivas pelos ruminantes (Wilson, 1997).

A proporção de tecidos pode explicar algumas das diferenças na digestibilidade entre forrageiras, por meio da quantificação dos tecidos com elevado teor de compostos solúveis e parede celular delgada, que apresentam alta digestibilidade; em oposição àqueles tecidos com baixo teor solúvel e parede espessa (lignificada), geralmente associada à baixa digestibilidade (Wilson, 1997; Ehlke & Casler, 1985).

Wilson et al (1983) em ensaios comparativos entre gramíneas C₃, C₄ e tipos intermediários C₃/C₄ do gênero *Panicum*, cultivadas no mesmo ambiente verificaram que as espécies C₃ apresentavam maiores proporções de mesofilo e menores de esclerênquima, tecido vascular e epiderme do que as C₄. Por outro lado as variações em digestibilidade, nem sempre podem ser explicadas pela proporção de tecidos, pois esta não considera a arquitetura dos tecidos, nem a composição química e espessura da parede celular de um mesmo tecido entre as espécies.

Moghaddam & Wilman (1998) observaram em espécies forrageiras e C_4 maior proporção de células de parede espessa (esclerênquima, xilema e bainha parenquimática dos feixes) em relação às C_3 , e as nervuras secundárias muito próximas, características de gramíneas do modo fotossintético C_4 . Provavelmente, esta estrutura altamente funcional que provê força e

suporte à folha, e auxilia no crescimento em condições de altas temperaturas e de seca, são consideradas antagônicas às de valor nutritivo da forragem, limitando o consumo em razão do alto teor de fibras.

Em estudos de correlações lineares entre a proporção de tecidos e caracteres nutritivos, podemos observar que os tecidos rapidamente degradados, apresentaram correlações positivas com os coeficientes de digestibilidade e negativas com teores de parede celular (Paciullo et al., 2002; Ehlke & Casler, 1985). De outro modo, tecidos resistentes à digestão ou que apresentam digestão lenta e parcial correlacionaram-se positivamente com parede celular e lignina, e negativamente com a digestibilidade (Queiroz et al., 2000; Wilson et al, 1983).

Embora a taxa e extensão da digestão dos tecidos pelos microrganismos do rúmen, possam variar entre espécies e cultivares da mesma espécie, Akin (1989) sugeriu um padrão de digestão foliar: células do mesofilo e floema são rapidamente degradados; as da epiderme e bainha parenquimática dos feixes, lenta e parcialmente degradada. As células do esclerênquima e xilema são mais resistentes à degradação microbiana, podendo permanecer praticamente indigerida. Os tecidos vasculares lignificados e cutícula não são degradados.

Hanna et al. (1973) em avaliações histológicas da lâmina foliar após a digestão *in vitro*, constataram que as células de mesofilo foram as primeiras a serem digeridas. Isso pode ser em parte, atribuído às paredes mais delgadas dessas células, sendo facilmente fragmentadas em partículas pequenas.

Ainda que nas gramíneas C_4 o mesofilo seja rapidamente degradado suas células são mais lentamente digeridas que nas espécies C_3 , nestas as células do mesofilo são mais livremente arranjadas em relação às C_4 (Wilson et al., 1983).

Hanna et al. (1973) observaram em gramíneas tropicais que as células de mesofilo são maiores em comprimento e menores em largura, com arranjo mais compacto ao redor dos feixes vasculares formando uma estrutura, que juntamente com as células da bainha parenquimática dos feixes (BPF) bem desenvolvidas e da epiderme, constituem características inerentes à anatomia do tipo Kranz. Tal estrutura pode inibir a degradação da BPF localizada longe do local inicial de digestão, formando uma barreira à degradação (Wilson et al., 1983).

Esse fator é importante do ponto de vista nutricional, pois a BPF contém alto teor de proteínas e amido, constitui uma significante fonte de conteúdo celular prontamente digestível, que pode não estar disponível aos microorganismos do rúmen (Wilson, 1997).

Além disso, o processo fotossintético do modo C₄ é dependente de fatores estruturais e bioquímicos distintos nos tecidos da BPF da lâmina foliar. Os três tipos fotossintéticos diferem na enzima de descarboxilação do composto de quatro carbonos nas células da BPF: fosfoenol piruvato carboxiquinase (PCK), enzima málica (NADP-ME e NAD-ME); cada um desses associados às diferenças estruturais na parede celular da bainha.

Os subgrupos PCK e NADP-ME caracterizam-se pela presença de uma estrutura especializada, a lamela média suberizada, localizada entre a parede primária e secundária da bainha parenquimática dos feixes, que não pode ser digerida pelos microorganismos do rúmen (Wilson & Hattersley, 1983). Esta estrutura, juntamente com a bainha parenquimática dos feixes fortemente acondicionadas juntas, sem nenhum espaço intercelular, constitui uma barreira aos microorganismos, tornando o conteúdo celular da BPF inacessível até a ruptura física (Wilson, 1993).

Tecidos como esclerênquima e tecidos vasculares lignificados, formados por parede secundária espessa, podem contribuir para a baixa qualidade da forragem (Akin, 1989; Wilson, 1993).

Lempp et al. (1996), observaram que o bloco de células esclerênquimáticas apresentou-se em feixes sem espaços intercelulares, paredes celulares espessadas, com comprimento e número de células variáveis, sendo maiores quando essas se situavam próximo aos tecidos vasculares maiores; concluindo que tal formação pode conferir maior resistência à forragem.

Em gramíneas tropicais Wilson et al. (1989c) citaram arranjo entre as células da epiderme e as da bainha parenquimática dos feixes, por meio de células do esclerênquima formando uma estrutura conhecida como "girder", sugerindo que esta pode dificultar o desprendimento da epiderme do restante da folha, por imprimir maior resistência a ações físicas ou químicas.

Lempp et al. (1997) observaram que ocorreu maior digestão dos tecidos pelos microorganismos a cv. Aruana em relação à cv. Vencedor (*P. maximum*), devido à menor

resistência dos tecidos ao destacamento, estando isso associado à menor freqüência de girder I. os genótipos que apresentaram menor freqüência de estrutura "girder" na lâmina foliar, resultaram em maior fragmentação de partículas de tecido, em relação àquelas com maior freqüência (Ehlke & Casler, 1985).

Outro fator que pode interferir na fragilidade das lâminas e consequentemente na digestão das gramíneas tropicais, é a sinuosidade da parede celular da epiderme, além do efeito da maturidade no espessamento da parede celular externa (Wilson, 1993).

Considerando que os atributos anatômicos da gramínea forrageira interferem na qualidade da lâmina foliar, o estudo da anatomia juntamente com a avaliação da composição química, pode contribuir para o conhecimento das diferenças qualitativas, bem como dos fatores limitantes à utilização da forrageira pelos ruminantes.

Além das variações em digestibilidade da lâmina foliar atribuída a estrutura anatômica (relacionada à proporção de tecidos) e às variações no conteúdo de parede celular (Grabber & Allinson, 1992; Ehlke & Casler, 1985; Wilson & Hattersley, 1989; Queiroz et al., 2000; Wilson & Hacker, 1987), tem sido observado diferenças em digestibilidade fortemente correlacionadas com os atributos morfológicos (comprimento e largura) e morfofisiológicos (área foliar e área foliar específica), associados aos atributos químicos e anatômicos (Wilson et al., 1989a; Casler & Carpenter, 1989; Masaoka et al., 1991; Wilson & Hattersley, 1989).

Digestibilidade de lâmina foliar foi negativamente correlacionada com proporção de tecidos de parede espessa na seção transversal (tecidos vasculares e BPF), e positivamente com a proporção de mesofilo (Ehlke & Casler, 1985; Wilson & Hattersley, 1989) e folhas grandes e alta área foliar específica (AFE) (Wilson et al., 1989a). Correlação negativa da digestibilidade com AFE (Wilson et al., 1983; Wilson & Hattersley, 1989), com comprimento da folha (Masaoka et al. 1991), bem como a associação negativa do teor de parede celular com AFE (Wilson & Hattersley, 1989), tem sido encontrada em gramíneas tropicais. A característica morfológica associada à preferência animal em *Festuca*, foi a largura foliar, relacionada à maior proporção de MES (MacAdam & Mayland, 2003).

Em razão disso, este estudo teve como objetivo avaliar lâminas foliares de diferentes genótipos de *P. maximum* quanto ao porte e aspectos morfológicos das lâminas foliares; quanto aos caracteres anatômicos, morfofisiológicos e agronômicos, e verificar as

correlações existentes entre essas características, que possam permitir inferência no valor nutritivo da lâmina forrageira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKIN, D.E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. Agronomy Journal, v.81, n.1, p.17-25, 1989.
- CASLER, M.D. & CARPENTER, J.A. Morphological and chemical responses to selection for in vitro dry matter digestibility in Smooth Bromegrass. Crop Science, v. 29, p. 924-928, 1989.
- EHLKE, N.J. & CASLER, M.D. Anatomical characteristics of smooth bromegrass clones selected for *in vitro* dry matter digestibility. Crop Science, v. 25, p. 513-517, 1985.
- GRABBER, J.H. & ALLINSON, W. Anatomical structure and digestibility of reed canarygrass cultivars and hybrid ryegrass. Grass and Forage Science, v. 47, p. 400-404, 1992.
- HANNA, W.W.; MONSON, W.G.; BURTON, G.W. Histological examination of fresh forages leaves after "*in vitro*" digestion. Crop Science, v. 13, n.1, p. 98-102, 1973.
- JANK, L.; SAVIDAN, Y.H.; COSTA, J.C.G.; et al. Pasture diversification through selection of new *Panicum maximum* cultivars in Brazil. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 16, 1989, Nice. Proceedings ... S.l.: The French Grassland Society, p.275-276, 1989.
- JANK, L. Melhoramento e seleção de variedades de Panicum maximum. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 12., 1995, Piracicaba. Anais... Piracicaba: FEALQ, 1995. p.21-58.1995.
- LEMPP, B.; EZEQUIEL, J.M.B.; SANTOS, J.M. et al. Observação da estrutura girder na taxa de digestão dos tecidos em lâminas de *Panicum maximum* Jacq. Cv. Aruana e vencedor. In REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34, 1997, Juiz de Fora. Anais... Juiz de Fora: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 12-14, 1997.

- LEMPP, B.; EZEQUIEL, J.M.B.; SANTOS, J.M. et al. Observações preliminares das células esclerenquimáticas em lâminas foliares de *Panicum maximum* Jacq. Cv. Aruana. In REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33, 1996, Fortaleza. Anais... Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 362-364, 1996.
- LEMPP, B.; KICHEIL, A. G.; MIRANDA, C.H.B. et al. Proporção e arranjo de tecidos em lâminas foliares de *Panicum maximum* cv. Massai. . In REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande. Anais... CD-ROM. Forragicultura. FORR-072.
- MacADAM, J.W. & MAYLAND, H.F. The relationship of leaf strength to cattle preference in Tall Fescue cultivars. Agronomy Journal, v. 95, p. 414–419, 2003.
- MASAOKA, Y. WILSON, J.R.; HACKER, J.B. Selecting for nutritive value in *Digitaria* milanjiana 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 (pangola grass). Australian Journal of Experimental Agriculture,v. 31, p. 631 638, 1991.
- MOGHADDAM, P.R. & WILMAN, D. Cell wall thickness and cell dimensions in plant parts of eight forage species. Journal of Agriculture Science, v. 131, p. 59-67, 1998.
- PACIULLO, D.S.C.; GOMIDE, J.A.; SILVA, E.A.M. et al. Degradação *in vitro* de tecidos da lâmina foliar e do colmo de gramíneas forrageiras tropicais, em função do estádio de desenvolvimento. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 31, n.2, p. 900-907, 2002. (suplemento)
- QUEIROZ, D.S.; GOMIDE, J.A.; MARIA, J. Avaliação da folha e do colmo de topo e base de perfilhos de três gramíneas forrageiras. 2. Anatomia. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 29, n.1, p. 61-68, 2000.
- WILSON, J. R.; ANDERSON, K.L., HACKER, J.B. 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, v. 40, p. 281 -291, 1989a.

- WILSON, J.R.; AKIN, D.E.; McLEOD, M.N.; et al. Particle size reduction of the leaves of a tropical and a temperate grass by cattle. II. Relation of anatomical structure to the process of leaf breakdown through chewing and digestion. Grass and Forage Science, v. 44, p. 65-75, 1989 c.
- WILSON, J.R.; BROWN, R.H.; WINDHAM W.R. Influence of leaf anatomy on the dry matter digestibility of C₃ e C₄, and C₃/C₄ intermediate types of Panicum species. Crop Science, v. 23, n. 1, p. 141-146, 1983.
- WILSON, J.R. & HACKER, J.B. Comparative digestibility and anatomy of some sympatric C_3 and C_4 arid zone grasses. Australian Journal of Agricultural Research, v. 38, p. 287 295, 1987.
- WILSON, J.R. & HATTERSLEY, P.W. Anatomical characteristics and digestibility of leaves of Panicum and other grass genera with C₃ and different types of C₄ photosynthetic pathway. Australian Journal of Agricultural Research, v. 40, p. 125-136, 1989.
- WILSON, J.R. & HATTERSLEY, P.W. *In vitro* digestion of bundle sheath cells in rumen fluid and its relation to the suberized lamella and C₄ photosynthetic type in *Panicum* species, Grass and Forage Science, v. 38, p. 219 223, 1983.
- WILSON, J.R. Organization of forage plant in tissues. In: JUNG, H.G.; BUXTON, D.R.; HATFIELD, R.D. (Eds.) et al. Forage cell wall structure and digestibility, Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, p 1-32, 1993.
- WILSON, J.R. Structural and Anatomical traits of forage influencing their Nutritive Value for Ruminants. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO. Universidade Federal de Viçosa, MG, p.173-208, 1997.

Quantificação Morfoanatômica de Lâminas de Acessos de Panicum maximum

Carla Batistoti¹, Beatriz Lempp², Liana Jank³, Roberta A.Gomes⁴, Elda B. de A. Silva⁵, Keila Cortez de Lucena⁶, Maria da Graça Morais⁷

RESUMO - A anatomia das gramíneas, relacionada à morfologia e composição química das lâminas foliares, pode ter influência no consumo e digestibilidade, interferindo na qualidade da forrageira. Estudaram-se nove genótipos de *Panicum maximum* na Embrapa Gado de Corte e Núcleo de Ciências Agrárias quanto às características agronômicas, químicas de lâminas e colmo, anatômicas e morfofisiológicas de lâminas foliares, a fim de verificar se as características e a associação entre elas, podem influenciar a qualidade da lâmina foliar. O delineamento experimental utilizado foi blocos completos ao acaso com nove tratamentos e três repetições, comparando-se o efeito da proporção de tecidos e da correlação entre as características, na qualidade da lâmina forrageira. Antes de cada corte quatro lâminas foliares, a penúltima completamente expandida, foram coletadas para a caracterização morfofisiológica (comprimento, largura, área foliar - AF e área foliar específica - AFE) e anatômica (proporção relativa dos tecidos). O corte das parcelas foi realizado com um intervalo de 35 dias nas águas, e 42 na seca, respectivamente três e uma avaliação. Após a pesagem realizou-se a separação dos componentes morfológicos e estimou-se o acúmulo de massa. A análise química e digestibilidade in vitro da matéria orgânica (DIVMO) foram realizadas nas lâminas e colmo. Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância com comparação de média pelo teste de Tuckey a 5%, e à análise de correlação linear e canônica, pelo SAS. Houve variações entre os genótipos para proporção de tecidos, destacando o PM33 com maior proporção de mesofilo (MES) em relação ao genótipo PM31 e às cvs. Milênio e Aruana. Observaram-se correlações positivas da largura com a proporção de MES, e da bainha parquimática dos feixes (BPF) com AF e AFE. A BPF correlacionou-se positivamente com a fibra em detergente neutro (FDN), e inversamente com a DIVMO. Considerando que as diferenças morfológicas entre os genótipos de P. maximum não interferiram no acúmulo de massa, a largura da lâmina foliar pode ser uma ferramenta auxiliar no processo de seleção de genótipos, discriminando materiais promissores qualitativamente, e com elevado potencial de produção.

Palavras-chaves: composição química, correlação canônica e linear, digestibilidade, morfologia, proporção de tecido, seleção

¹ Mestranda do Curso de Veterinária: Produção Animal – Campo Grande – MS

² Professora do Departamento de Ciências Agrárias – UFGD – Dourados - MS

³ Pesquisadora da Embrapa Gado de Corte – Campo Grande – MS

⁴ Engenheira Agrônoma – Bolsista Apoio Técnico – CNPq/FUNDECT – UFGD - Dourados – MS

⁵ Técnica de Laboratório do Departamento de Ciências Agrárias – UFGD- Dourados- MS

⁶ Acadêmica do Curso de Agronomia – UFGD – Dourados – MS

⁷ Professora Coordenadora do Programa de Mestrado em Ciência Animal – UFMS – Campo Grande - MS

Morph anatomical Quantification of Leaf Blades of Panicum maximum

ABSTRACT - The anatomy of the grass, related to the morphology and chemical composition of the leaf blades, can have influence in the intake and digestibilidade, intervening with the quality of the forage. Nine genotypes of *Panicum maximum* were evaluated at Embrapa Beef Cattle and Nucleus of Agricultural Sciences as to agronomic, chemical characteristics of leaves and stems, and anatomical and morphophysiological characteristics of leaf blades, in order to verify if the characteristics and the association between them, they can influence the quality of the leaf. The experimental design was a randomized complete block with nine treatments and three replications, to compare the proportion of tissues, and its correlation with the morphologics and chemical characteristics, in the quality of the blade forage. Before each harvest, four leaves, being the second last completely expanded leaf, were collected for the morphophysiological (length, width, leaf area - AF and specific leaf area - AFE) and anatomical characterization (relative proportion of tissues). The harvests of the plots were done with an interval of 35 days in the rainy season and 42 days in the dry season, respectively three and one harvests. After weighing, the morphological components were separated and the mass accumulation was estimated. Chemical and digestibility analyses were done in leaves and stems. The results were analyzed statistically by SAS and the means compared by the Tukey test at 5% level, and a analysis of simple and canonic linear correlation. Variation among genotypes were found for the proportion of mesophyll (MES). The genotype PM33 presented the highest proportion of total digestible tissue (MES) compared to PM31 and the cultivars Milenio and Aruana. Positive correlations between the anatomical attributes and the morphologic characteristics had occurred, being more significant the positive association of the width with the proportion of MES, and of bundle sheats cells (BPF) with AF and AFE. The bundle sheath cells (BPF) correlated positively with neutral detergent fiber (FDN), and inversely with DIVMO. Considering that the morphologics differences between the genotypes of *P. maximum* had not intervened with mass accumulation, the leaf blade can be a tool auxiliary in the process of selection of genotypes, discriminating material qualitatively promising, and with highed potential of production.

Keywords: chemical composition, digestibility, linear and canonical correlation, morphology, selection, tissue proportion

Introdução

As gramíneas forrageiras mais utilizadas na produção de forragem para alimentação do rebanho nacional, pertencem basicamente a dois gêneros, "Brachiara" e "Panicum", e se encontram amplamente distribuídas e bem adaptadas à maioria das nossas regiões pastoris.

As gramíneas tropicais possuem elevadas taxas de crescimento e potencial de produção. Em geral estas plantas possuem células especializadas e estrutura anatômica que conferem a este grupo alta eficiência metabólica, sendo parcialmente associada ao modo fotossintético C4.

Entre os atributos da forragem que determinam sua qualidade, destaca-se a digestibilidade e o seu efeito no consumo, sendo influenciada pelas características anatômicas e químicas da lâmina foliar.

A proporção de tecidos tem sido a característica anatômica frequentemente relacionada ao valor nutritivo das gramíneas, por possibilitar observação dos diferentes tipos de tecidos, que apresentam potencial de digestão diferenciado.

A determinação da proporção de tecidos, medida como área relativa em seções transversais de lâminas foliares, tem demonstrado correlações significativas com algumas entidades nutritivas (proteína bruta, digestibilidade, fibra em detergente neutro).

Variações em digestibilidade da lâmina foliar têm sido atribuídas à variação nos atributos anatômicos, pela proporção relativa dos tecidos com alto conteúdo celular e paredes delgadas, em contraste com tecidos de baixo conteúdo celular e paredes espessas, geralmente lignificadas.

Considerando que os atributos anatômicos da gramínea forrageira interferem na qualidade da lâmina foliar, o estudo da anatomia juntamente com a avaliação da composição química, pode contribuir para o conhecimento das diferenças qualitativas, bem como dos fatores limitantes à utilização da forrageira pelos ruminantes.

Além das diferenças em digestibilidade relacionadas aos atributos anatômicos, e às diferenças nos conteúdos de parede celular, variação em digestibilidade tem sido associada às características morfofisiológicas (comprimento, largura, área foliar e área foliar específica), apresentando forte correlação com atributos químicos e anatômicos.

Portanto, a determinação de características morfofisiológicas pode prover um critério adicional ainda na fase inicial de seleção de germoplasmas, facilmente mensurável e fortemente correlacionado com os atributos químicos e anatômicos, indicativos de qualidade da lâmina.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o acúmulo de massa, as características anatômicas, morfofisiológicas e composição química da lâmina foliar de *P. maximum*, e verificar se esses atributos e as correlações entre eles podem permitir inferências sobre o valor nutritivo da lâmina forrageira.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido nas dependências da Embrapa Gado de Corte, em Campo Grande, MS, com altitude de 530 m e coordenadas geográficas 20° 27' S e 54° 37' W. O solo do experimento é um Latossolo Vermelho escuro de textura argilosa, com 40-45% de argila.

A área experimental (2.400m²), anteriormente implantada com *Brachiaria* spp., foi queimada em junho de 2002 e gradeada duas vezes com grade pesada e uma com grade niveladora. A correção do solo foi realizada em função da análise do solo cujas características químicas são apresentadas na Tabela 1. Aplicaram-se duas toneladas de calcário dolomítico/ha, e a adubação de implantação consistiu de 100 kg.ha⁻¹ de P₂O₅ na forma de superfosfato simples, 40 kg.ha⁻¹ de K₂O na forma de cloreto de potássio e 50 kg.ha⁻¹ de FTE BR16.

Tabela 1 - Características químicas do solo da área experimental na camada de 0 a 20 cm de profundidade

0-	pН	Ca^{++} Mg^{++}	K^+ Al^{+3} $H+Al$	S T	V m	МО	Pme Pres K
20 cm	H ₂ O CaCl ₂		cmol/dm ³		%	g/dm ³	mg/dm ³
· · · ·	5,19 4,17	0,55 0,26	0,11 1,57 8,95	0,92 9,87	9,28 63,13	53,2	1,89 3,16 41,1

Pme, fósforo extraído com duplo ácido

Pres, fósforo extraído com resina

A semeadura foi realizada em 07 de novembro de 2002. Para semeadura utilizou-se 3,3 kg de sementes puras viáveis/ha, e considerando o valor cultural das sementes, foram utilizados 0,067g de SPV por metro linear, ou 60 SPV por metro linear. Após a germinação a área foi novamente gradeada com grade niveladora.

Os genótipos implantados foram dezoito acessos de *Panicum maximum* préselecionados da coleção de germoplasma na Embrapa Gado de Corte e que integram, atualmente, a Rede Nacional de Avaliação II. Destes, quatro são híbridos desenvolvidos pelo cruzamento

entre acessos da coleção, e cinco são as cultivares Tanzânia, Mombaça, Massai, Aruana e Milênio.

Dos dezoito genótipos implantados, foram selecionados por avaliação visual, nove genótipos, sendo três de porte baixo, três de porte médio e três de porte alto. E entre esses, plantas que possuíam lâminas eretas ou decumbentes. Dessa forma selecionaram-se plantas de porte baixo e lâmina ereta (PM31); porte baixo e lâmina decumbente (PM45 e Aruana); porte médio e lâmina decumbente (PM44 e PM43); porte médio com lâmina ereta (PM37); porte alto e lâmina decumbente (PM47); porte alto com lâmina ereta (PM33 e Milênio).

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, sendo nove genótipos e três repetições. As parcelas foram de 24m² com seis linhas de quatro metros de comprimento, espaçadas 0,50 metros entre linhas e dois metros entre parcelas. A amostragem na parcela foi feita em uma área útil de 4m², sendo quatro plantas por parcela, envolvendo as quatro linhas centrais e eliminando um metro de bordadura ao final de cada linha.

Em fevereiro de 2004, foi feita adubação de cobertura com 100 kg.ha⁻¹ de P₂O₅ na forma de superfosfato simples, 100 kg.ha⁻¹ de nitrogênio na forma de uréia e 100 kg.ha⁻¹ de potássio na forma de cloreto de potássio. Em outubro de 2004, foi feita uma nova análise de solo, cujas características químicas estão apresentadas na Tabela 2. O corte de uniformização foi realizado em 10/11/2004 a uma altura de 20 cm do solo.

Tabela 2 - Características químicas do solo da área experimental na camada de 0 a 20 cm e 20 a 40 cm de profundidade

	pН	Ca^{++}	Mg^{++}	K^{+}	Al^{+3}	H+ Al	S	T	V	m	МО	PM1	PM3	K
	CaCl ₂			c	mol/dn	1^3			0,	%	g/dm ³	1	ng/dm³	
0-20cm	4,30	0,66	0,43	0,11	1,10	8,76	1,21	9,97	12,13	47,71	52,5	1,20	1,01	44,0
20-40cm	4,31	0,51	0,31	0,07	1,02	7,39	0,89	8,28	10,73	53,40	42,0	0,87	0,83	26,7

PM1, fósforo extraído com resina;

PM3, fósforo extraído com duplo ácido.

Após a escolha dos genótipos em dezembro de 2004, deu-se início às coletas de lâminas foliares no campo experimental. As coletas foram realizadas um dia antes de se efetuar o corte das gramíneas nas parcelas, feito a cada 35 dias nas águas e 42 dias na seca.

Quatro lâminas foliares, uma de cada das quatro plantas aleatórias em cada parcela útil, foram coletadas de perfilho vegetativo. Selecionou-se a penúltima lâmina foliar com lígula

exposta. As lâminas foram cortadas na região do colar e acondicionadas em sacos plásticos, sendo imediatamente armazenadas em um freezer a –10°C até serem iniciadas as avaliações.

As coletas referentes ao período das águas, em número de quatro, ocorreram em 14/12/2004, 18/01/2005, 21/02/2005 e 05/04/2005, e a referente ao período da seca foi realizada em 17/05/2005. Os dados meteorológicos do período experimental são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Dados meteorológicos do período experimental

			2	2004		
Mês	Temperatura (°C) Umidade (de (%)	Precipitação (mm)
	Máx	Min	Média	Máx	Min	
12	31,4	20	25	81	56	266,2
-	-	-	2	2005		
Mês	Temperatura (°C)		(°C)	Umidade (%)		Precipitação (mm)
	Máx	Min	Média	Mé	dia	
1	30,01	21,78	24,85	85	,6	232
2	32,71	21,00	25,99	67	,0	156,8
3	31,75	20,77	25,35	71	,4	89,6
4	30,70	19,88	24,31	69	,2	70,9
5	29,03	17,64	22,23	64	.,9	113,8

Fonte: Embrapa Gado de Corte.

Efetuou-se o corte da forragem na área central da parcela (4m²) a 20 cm do solo, o material coletado foi pesado obtendo-se o peso verde total, a fim de se verificar o acúmulo de massa no período das águas e da seca. Desta amostra retirou-se uma sub-amostra de 300-400 g, que foi separada nos componentes morfológicos: lâmina foliar, colmo mais bainha e material morto; e estes foram pesados e levados à estufa de circulação forçada de ar à 60°C até peso constante. Após nova pesagem, estimou-se o teor de matéria seca. A partir destes dados, verificou-se o acúmulo de massa em termos de matéria seca total (MST), matéria seca verde de lâmina foliar (MSVLF) e matéria seca verde do colmo e bainha (MSVCB).

As amostras de lâmina foliar (águas e seca) e colmo + bainha (águas), foram moídas em peneira de 1 mm e parte destas (cerca de 4%), submetidas às análises para estimativas dos teores de proteína bruta (PB) AOAC (1990); fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina em ácido sulfúrico (LIGs) (Van Soest et al., 1991); lignina em permanganato de potássio (LIGper) (Van Soest & Wine, 1968); digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) (Tilley & Terry, 1963), para ajustar a curva de calibração no aparelho

de espectrometria próxima ao infravermelho (NIRS). O restante das amostras foi analisado utilizando este último procedimento.

Para a caracterização morfológica das lâminas foliares, foram mensurados com auxílio de uma régua, a largura na porção central da lâmina, e o comprimento tomado do ápice da lâmina foliar na outra extremidade, base de inserção na lígula. Feito isso, amostraram-se fragmentos de aproximadamente 10 mm na porção mediana, acondicionando-os em vidros com capacidade de 10 mL e cobertos com solução de FAA (90 mL de etanol 50%: 5 mL de ácido acético glacial: 5 mL de formaldeído a 37%), armazenados até o início do preparo histológico.

Após a amostragem dos fragmentos para as avaliações anatômicas (1 cm na porção mediana das lâminas) mediu-se a área foliar, utilizando o medidor Licor Modelo 3100, e obtendo os valores pela média de duas leituras tomadas. As quatro lâminas foliares, por tratamento e por repetição, foram pesadas e levadas à estufa à 60°C para secagem até peso constante, e pesadas novamente, a fim de se estimar o teor de matéria seca. A área foliar específica (AFE) foi calculada dividindo-se a área (cm²) pelo peso seco (g) obtido após a secagem, das quatro lâminas foliares.

Na etapa de desidratação do preparo histológico dos fragmentos das lâminas foliares (Daykin & Hussey, 1985), utilizou-se uma série alcoólica com álcool butírico terciário por cerca de 40 horas, a fim de remover gradualmente a água e evitar a plasmólise celular. Ao final da série alcoólica, procedeu-se à etapa de infiltração e a confecção de bloquinhos com paraplast. Foram obtidas seções transversais de 10 µm de espessura, utilizando-se um micrótomo rotativo manual, com as quais foram montadas as lâminas para o processo de coloração segundo Hagquist (1974). Após essa última etapa, foram montadas as lâminas permanentes para a anatomia quantitativa.

As proporções dos diferentes tipos de tecido, expressas como porcentagem da área total da seção transversal projetada no vídeo (Figura 1), foi determinada com auxílio de um microscópio óptico binocular acoplado ao sistema analisador de imagens Axio Vision. Inicialmente foi medida a área total da seção transversal da lâmina projetada no vídeo, após a nervura central, geralmente entre dois ou três feixes vasculares e em seguida, os tecidos da epiderme adaxial (EPIada) e abaxial (EPIaba), da bainha parenquimática dos feixes (BPF), do esclerênquima (ESC), do tecido vascular (TV) (Figura 1). O mesofilo foi calculado pela diferença entre a área total da seção transversal e as áreas dos demais tecidos.

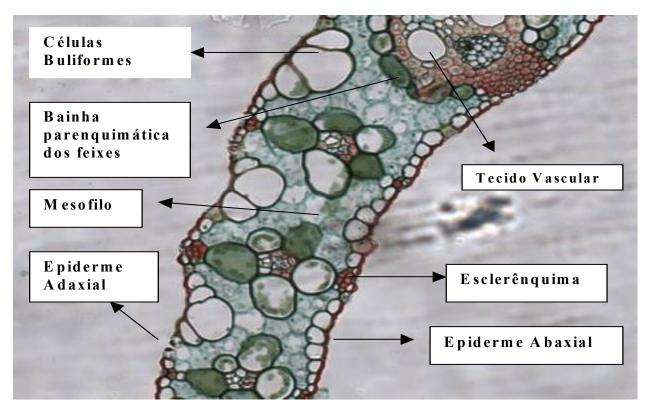


Figura 1. Seção transversal de fragmentos de lâmina foliar de P. maximum

Os resultados obtidos da caracterização morfológica, das características agronômicas, da composição química e da proporção de tecidos, foram submetidos a uma análise de variância com comparação de médias, pelo teste de Tuckey a 5%, e também, a uma análise de correlação linear simples, utilizando o SAS (1997). Foi realizada análise estatística separada para os dados obtidos nas águas e na seca. No período das águas obteve-se a média dos dados das quatro avaliações. Análise de correlação simples entre os dados das características químicas, anatômicas e morfofisiológicas, utilizou 54 observações para cada característica.

Em adição à análise univariada, a análise canônica, um método multivariado foi efetuado. Esse procedimento maximiza variações entre os grupos nas variáveis originais. Estimaram-se as correlações canônicas (Cruz & Regazzi, 1997) entre o grupo de variáveis morfofisiológicas (VM): comprimento de folha (CF), largura da folha (LF), área foliar (AF), área foliar específica (AFE); grupos de variáveis químicas da forragem (QF): MO, PB, FDN, FDA, DIVMO, LIGs, LIGper, CEL e sílica (SIL); grupos de variáveis agronômicas (VA): MST e MSVLF; grupos de variáveis anatômicas da forragem (AF): EPIada, EPIaba, TV, BPF, ESC e

MES. Foram considerados para efeito da extração da variável canônica, uma percentagem de explicação da variância total acima de 80% e autovalores maiores que 1.

As variáveis canônicas são combinações lineares das variáveis originais em dois grupos previamente formados, correspondendo ao par canônico. A primeira variável canônica do grupo 1 e a primeira variável canônica do grupo 2, formam o 1º par canônico e a maior proporção de explicação da variação total, o maior autovalor (λ_1) da matriz R_{11}^{-1} R_{12}^{-1} R_{22}^{-1} R_{12}^{-1} , em que:

R₁₁: matriz de correlação entre os caracteres do grupo 1

R₂₂: matriz de correlação entre os caracteres do grupo 2

R₁₂: matriz de correlação entre os caracteres do grupo 1 e 2.

O número de correlações canônicas e de pares canônicos é função do menor número (Cruz & Regazzi, 1997). A magnitude dos valores absolutos dos coeficientes canônicos dá o valor relativo de cada variável para discriminação entre os grupos.

Resultados e Discussões

Os dados referentes ao acúmulo de massa no período das águas e da seca são apresentados na Tabela 4. Os genótipos não diferiram quanto ao acúmulo de MST nas águas, e apresentaram diferenças significativas para o acúmulo de MSVLF destacando PM31, PM33, PM45 e a cv. Milênio, que foram superiores à cv. Aruana, e semelhantes aos demais genótipos, que apresentaram em média 1.562,9 kg.ha⁻¹.

Tabela 4. Média do acúmulo de massa de genótipos de *Panicum maximum*, no período das águas com 35 dias, e da seca com 42 dias

Seed cer	11 42 (118)	/	
		ÁGUAS	
Genótipos	Matéria Seca Total	Matéria Seca Lâmina Foliar	Matéria Seca Colmo e
	(kg.ha ⁻¹)	(kg.ha ⁻¹)	Bainha
			(kg.ha ⁻¹)
Aruana	1439,8°	928,5 ^b	484,3°
PM45	1966,9 ^a	$1836,0^{a}$	114,5 ^d
PM31	2295,5 ^a	2041,5 ^a	172,6 ^{cd}
PM43	1803,3 ^a	1338,1 ^{ab}	465,2 ^a
PM44	$1933,7^{a}$	1617,2 ^{ab}	313,8 ^{abc}
PM37	1856,3 ^a	1646,6 ^{ab}	191.9^{bcd}
PM47	$1857,3^{a}$	$1649,6^{ab}$	$207,7^{\text{bcd}}$
PM33	$2099,7^{a}$	$1834,9^{a}$	258,8 ^{bcd}
Milênio	2293,3 ^a	1894,7 ^a	382,8 ^{ab}
CV (%)	16,3	17,7	23,3
Médias	1949,5	1638,0	289,0
DMS^1	920,4	846,6	195,1

		SECA	
Genótipos	Matéria Seca Total	Matéria Seca Lâmina Foliar	Matéria Seca Colmo e
	(kg.ha ⁻¹)	(kg.ha ⁻¹)	Bainha
			$(kg.ha^{-1})$
Aruana	359,8 ^a	219,3 ^b	58,7 ^{bc}
PM45	842,8 ^a	805,2 ^a	5,4°
PM31	982,5 ^a	668,8 ^{ab}	$204,7^{a}$
PM43	$284,0^{a}$	237,2 ^b	$16,0^{c}$
PM44	$802,3^{a}$	617,4 ^{ab}	$80,9^{abc}$
PM37	$478,2^{a}$	418,6 ^{ab}	11,8°
PM47	$337,7^{a}$	296,5 ^{ab}	29,8 ^{bc}
PM33	503,5 ^a	442,4 ^{ab}	12,6°
Milênio	662,8 ^a	424,5 ^{ab}	154,1 ^{ab}
CV (%)	43,3	39,2	71,8
Médias	583,7	458,9	63,8
DMS^1	733,5	522,2	133,1

a, b, c, d médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%;

O baixo acúmulo de MSVLF da cv. Aruana no período das águas, pode ser atribuído à maior proporção de colmo na forragem, verificado pelo elevado acúmulo de MSVCB da cultivar, mas comparativamente igual à cv. Milênio, ao PM43 e ao PM44 em média com 23,1 de colmo (% MST); e superiores ao PM45 com 5,8% de colmo na MST. O genótipo PM31 também

¹, DMS = Diferença mínima significativa.

foi inferior à cv Milênio em acúmulo de MSVCB, e igual aos genótipos intermediários que apresentaram valores médios de 219,47 kg.ha⁻¹. Pode-se destacar o genótipo PM45 por exibir simultaneamente, acúmulo de MSVC inferior, e acúmulo de MSVLF superior à cv. Aruana.

De um modo geral, as gramíneas tropicais exibem comportamento estacional quanto à produção de matéria seca, podendo ser verificado pelo menor acúmulo de MST, MSVLF e MSVCB para os genótipos na seca.

Como no período das águas, na seca os genótipos não diferiram quanto ao acúmulo de MST. O genótipo PM45 expressou um padrão de acúmulo de MSVLF e MSVCB semelhante ao período das águas, apresentando acúmulo de MSVLF superior a cv. Aruana e ao PM43, acompanhado por relativamente menor acúmulo de MSVCB, diferindo (P<0,05) do genótipo PM31 e da cv. Milênio. Os genótipos intermediários exibiram valores médios de 478,03 kg.ha⁻¹ e 56,5 kg.ha⁻¹ de acúmulo de MSVLF e MSVCB, respectivamente.

Queda no acúmulo de MSVCB em decorrência da época ocorreu em todos os genótipos com exceção do PM31 e foi bem visível nos genótipos PM43, PM37, PM33 e PM45, que apresentaram produções inferiores de MSVCB na seca, diferindo dos genótipos PM31 e PM44 e da cv. Milênio. O genótipo PM31 foi superior ainda, à cv. Aruana e ao PM47.

Os dados bromatológicos das lâminas foliares dos genótipos nos períodos avaliados são apresentados na Tabela 5. A digestibilidade das lâminas entre os genótipos variou em 12,1% em relação ao menor valor (48,7% a 54,6%) no período das águas, o que possibilita a seleção de germoplasma com maior potencial qualitativo. Variações no teor de parede celular afetando a digestibilidade é evidente entre espécies do gênero *Panicum* (Wilson et al., 1983). O aumento em DIVMO da folha, geralmente ocorre concomitante com a redução nos teores de FDA, LIGs, LIGper e CEL, Ehlke & Casler (1985) e Masaoka et al. (1991). O que ficou bem evidente no genótipo PM43, que apresentou DIVMO da lâmina foliar superior ao genótipo PM44 e à cv. Milênio, e menores teores de FDA e LIGs, mas com teor de FDN semelhante.

Tabela 5. Médias dos teores proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), digestibilidade (DIVMO) lignina (LIG), celulose (CEL) e sílica (SIL) em lâminas foliares de genótipos de Panicum maximum, período das águas e da seca

				ÁGUAS				
Genótipos	PB	FDN	FDA	DIVMO	LIGs ¹	LIGper ²	CEL	SIL
				(% na l				
Aruana	$12,2^{a}$	$78,7^{a}$	$39,6^{b}$	54,3 ^{ab}	$3,0^{c}$	$7,9^{ab}$	$28,9^{cd}$	5,4 ^{ab}
PM45	$11,9^{ab}$	$75,9^{a}$	$42,0^{ab}$	$50,7^{ab}$	$3,5^{bc}$	$8,3^a$	$28,7^{cd}$	7.3^{a}
PM31	$10,3^{6}$	$79,9^{a}$	$43,6^{a}$	$50,2^{ab}$	$3,7^{ab}$	$8,2^a$	$32,0^{ab}$	3,9 ^b
PM43	$12,0^{ab}$	$76,1^{a}$	$40,3^{b}$	54,6 ^a	$3,1^{c}$	$7,1^{b}$	28.0^{d}	$6,1^{ab}$
PM44	$11,1^{ab}$	$77,3^{a}$	$43,4^{a}$	$48,7^{b}$	$3,7^{ab}$	8.1^{ab}	30,3 ^{bcd}	6.0^{ab}
PM37	$11,3^{ab}$	$78,2^{a}$	$44,5^{a}$	52,4 ^{ab}	$4,0^{a}$	$7,4^{ab}$	33.0^{a}	$4,4^{\rm b}$
PM47	11,3 ^{ab}	$77,9^{a}$	$42,1^{ab}$	$52,6^{ab}$	3,5 ^{bc}	7,5 ^{ab}	30,0 ^{bcd}	$5,6^{ab}$
PM33	$12,2^{a}$	$78,1^{a}$	$42,2^{ab}$	50,1 ^{ab}	3.5^{abc}	$8,2^a$	29.7^{bcd}	5,5 ^{ab}
Milênio	11,8 ^{ab}	$78,1^{a}$	$43,0^{a}$	$48,8^{b}$	$3,7^{ab}$	$8,2^a$	30,4 ^{bc}	5,3 ^{ab}
CV (%)	5,3	2,0	2,2	3,8	5,2	4,7	2,7	16,7
Médias	11,6	77,8	42,3	51,4	3,5	7,9	30,1	5,5
DMS ³	1,8	4,5	2,7	5,7	0,5	1,1	2,4	2,7
				SECA				
Genótipos	PB	FDN	FDA	DIVMO	LIGs ¹	LIGper ²	CEL	SIL
				(% na 1	MS)			
Aruana	$13,4^{ab}$	$73,2^{a}$	$38,2^{b}$	56,9 ^a	$3,5^{a}$	$7,5^{a}$	$26,3^{bc}$	6,8 ^{abc}
PM45	12,4 ^{abc}	$72,2^{a}$	$41,3^{a}$	54,1 ^a	$3,9^a$	$7,4^{a}$	$27,5^{abc}$	7.0^{abc}
PM31	11,1°	$73,4^{a}$	$41,8^{a}$	51,1 ^a	3.8^{a}	$7,5^{a}$	$28,7^{ab}$	6.0^{bc}
PM43	$13,4^{ab}$	$69,0^{a}$	$39,4^{ab}$	$53,0^{a}$	$3,9^a$	$6,9^{a}$	$24,9^{c}$	$8,7^{ab}$
PM44	11,5 ^{bc}	$70,6^{a}$	$41,8^{a}$	51,4 ^a	$3,8^{a}$	$7,6^{a}$	$27,6^{abc}$	$7,2^{abc}$
PM37	$13,3^{abc}$	$72,3^{a}$	$42,0^{a}$	55,7 ^a	$4,0^{a}$	$6,8^{a}$	$30,0^{a}$	5,5°
PM47	$13,9^{a}$	$73,0^{a}$	$40,4^{ab}$	55,2 ^a	$3,5^{a}$	$7,3^{a}$	$25,7^{c}$	$9,1^{a}$
PM33	$14,2^{a}$	$71,7^{a}$	40.1^{ab}	55,1 ^a	$3,7^{a}$	$6,9^{a}$	$26,6^{bc}$	$8,4^{abc}$
Milênio	14,4 ^a	$69,6^{a}$	39,3 ^{ab}	53,9 ^a	$3,4^{a}$	$7,3^{a}$	25,6°	7,9 ^{abc}
CV (%)	6,0	3,1	2,5	6,0	8,6	5,9	3,7	13,6
Médias	13,1	71,7	40,5	54,0	3,7	7,2	27,0	7,4
DMS^3	2,3	6,5	2,9	9,4	0,9	1,2	2,9	2,9

a, b, c médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%.

Entre os genótipos que tiveram valores intermediários de DIVMO, 48,8% em média, a cv. Aruana e o genótipo PM33 apresentaram teor de PB superior ao PM31; os demais genótipos exibiram em média 11,6% de PB.

Alto teor de PB concomitante com a redução nos teores de FDA e LIGs foi observado na cv. Aruana e no genótipo PM43, para os quais foram registrados teores de FDA e LIGs,

^{1,} LIGs = lignina em ácido sulfúrico 2 LIGner = lignina em permanganat

², LIGper = lignina em permanganato ³, DMS = Diferença mínima significativa.

significativamente inferiores aos genótipos PM31, PM44, Milênio e PM37. A relativamente baixa digestibilidade *in vitro* de matéria orgânica verificada para o PM44 e a cv. Milênio ocorreu simultaneamente com elevados teores de FDA, e intermediários de LIGs (3,7%). Valores intermediários de FDA (42,1%) foram encontrados para o PM33, PM47 e PM45.

O PM33 não diferiu dos demais genótipos quanto ao teor de LIGs. Com relação ao teor de LIGper, foram encontrados valores superiores para os genótipos PM45, PM31, PM33 e da cv. Milênio, ao PM43; e intermediários para o PM37, PM47, Aruana e PM44 variando de 7,4% a 8,1%.

Pode se observar variação significativa nos teores de SIL, sendo encontrado para os genótipos PM31 e PM37 menores teores em relação ao PM45, e teores comparativamente semelhantes aos outros genótipos, que exibiram valores médios de 5,7%. Diferenças significativas entre os genótipos relacionadas ao teor de CEL foram registradas. O genótipo PM37 foi semelhante ao PM31 e superior aos demais. O PM31, por sua vez, foi semelhante ao PM44, PM47, PM33 e Milênio e superior aos demais. O genótipo com menor teor de CEL foi o PM43 que só diferiu do PM37, PM31 e Milênio.

Os genótipos apresentaram diferenças significativas nos teores de PB, FDA, CEL e SIL no período da seca. Entretanto, estas alterações parecem não interferir na DIVMO das lâminas nos diferentes genótipos, uma vez que a digestibilidade não apresentou diferença significativa.

Na seca, da mesma forma que no período das águas, o teor de PB do genótipo PM31 foi significativamente inferior aos demais genótipos, com exceção dos genótipos PM45, PM44 e PM37. O valor médio de 13,4% de PB do genótipo PM43 e da cv. Aruana diferiu apenas do PM31.

Observou-se elevado teor de FDA nos genótipos que apresentaram relativamente menor teor de PB. Maiores teores de FDA foram encontrados para os genótipos PM31, PM44, PM45 e PM37 em relação à cv. Aruana. Os demais genótipos foram intermediários e mostraram valores médios de 39,7%

Os teores de CEL variaram estatisticamente, apresentando maiores valores para os genótipos PM37 e PM31, comparados ao genótipo PM47, à cv. Milênio e ao genótipo PM43. O PM37 foi também, superior ao genótipo PM33 e à cv. Aruana.

O teor de sílica é um importante componente estrutural de gramíneas forrageiras e o alto teor de sílica na planta, pode estar associado à menor aceitabilidade e à redução no consumo, (Van Soest, 1994). Observou-se que o acúmulo de sílica foi mais elevado na seca, e apresentou variações significativas entre os genótipos, sendo o genótipo PM47 superior ao genótipo PM37 e PM31 e comparativamente igual aos outros, cujos valores variaram de 6,8% a 8,7%.

Essas alterações nos componentes químicos não conduziram à mudança nos teores de FDN, uma vez que não houve diferença significativa para esse componente, em nenhum dos períodos avaliados. Casler & Carpenter (1989) também não observaram diferenças no teor de FDN entre os acessos estudados de Smooth Bromegrass, que diferiram entre si nos demais componentes da parede celular.

A maior digestibilidade da fração folha na seca em relação às águas pode ser explicada pelos menores teores de FDA, CEL e LIG como sugerido por Wilson et al. (1991), em decorrência do menor desenvolvimento foliar, em função das menores temperaturas no período (Wilson & Hacker, 1987).

Neste estudo o período da seca apresentou temperatura 12,6% inferior ao registrado nas águas (Tabela 3). Pode–se verificar que para cada decréscimo de 1°C na temperatura média ocorreu em média acréscimo de 1,3% na DIVMO, exceto para PM44 e cv. Milênio. Wilson & Minson (1980), também verificaram queda da digestibilidade com a elevação da temperatura.

De maneira geral, os teores de PB observados para todos os genótipos foi superior ao mínimo exigido pela população microbiana para uma efetiva função ruminal, sendo em média 11,6 % nas águas, e 13,1% na seca, e dessa forma não comprometeriam o desempenho animal.

Os resultados da composição química da fração colmo no período das águas, são apresentados na Tabela 6. No colmo, não foi observado a mesma tendência de aumento em DIVMO acompanhado de redução dos teores de FDA, LIGs, LIGper e CEL, como observado na lâmina foliar. Não houve diferenças nos teores dos componentes químicos da fração colmo, exceto para DIVMO.

Os genótipos com maior valor de DIVMO da lâmina nas águas também apresentou maior DIVMO do colmo, exceção ao PM45. Casler & Carpenter (1989) observaram correlação positiva entre DIVMO do colmo e folha (r = 0,38; P<0,01), como também Wilson et al. (1989a).

Tabela 6. Médias dos teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), digestibilidade (DIVMO) lignina (LIG), celulose (CEL) e sílica (SIL) de colmo de genótipos de *Panicum maximum*, período das águas

Genótipos	PB	FDN	FDA	DIVMO	LIGs ¹	LIGper ²	CEL	SIL
+				(%na	MS)			
Aruana	$7,0^{a}$	82,3°	48,1 ^a	48,7ª	4,8 ^a	10,9 ^a	34,1 ^a	4,9 ^a
PM31	$5,3^{a}$	$75,0^{a}$	$45,9^{a}$	38,1 ^{ab}	$5,1^a$	$10,4^{a}$	$32,7^{a}$	$3,4^{a}$
PM43	$6,7^{a}$	$80,8^{a}$	$48,9^{a}$	$48,1^{a}$	$5,0^{a}$	$10,3^{a}$	$34,9^{a}$	$4,5^{a}$
PM45	$4,4^{a}$	$56,9^{a}$	$34,2^{a}$	$28,2^{b}$	$3,2^a$	$7,9^{a}$	$23,9^{a}$	$3,7^{a}$
PM47	$5,5^{a}$	$79,6^{a}$	$48,4^{a}$	$49,2^{a}$	$4,6^{a}$	$9,7^{a}$	$34,9^{a}$	$4,5^{a}$
PM44	$5,5^{a}$	$82,6^{a}$	$50,4^{a}$	$47,3^{ab}$	$5,2^{a}$	11,1 ^a	$35,5^{a}$	$4,6^{a}$
Milênio	$5,3^{a}$	81,1 ^a	$50,5^{a}$	$44,6^{ab}$	$5,1^{a}$	$10,9^{a}$	$36,1^{a}$	$4,5^{a}$
PM37	$5,2^{a}$	$74,9^{a}$	$47,2^{a}$	$40,8^{ab}$	$4,9^{a}$	9,3 ^a	$34,2^{a}$	$3,6^{a}$
PM33	$6,0^{a}$	$82,0^{a}$	$49,7^{a}$	$44,8^{ab}$	$5,2^{a}$	$11,0^{a}$	$34,9^{a}$	4,4 ^a
CV (%)	18,3	17,5	17,0	15,8	15,9	18,8	17,1	22,0
Médias	5,7	77,2	47,0	43,3	4,8	10,2	33,5	4,2

a, b, c, de médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

O genótipo PM47 e a cultivar Aruana que também tiveram alta DIVMO do colmo nas águas, obtiveram valores intermediários de DIVMO da folha; e a cultivar Milênio e o genótipo PM44 com baixa DIVMO da folha, apresentaram moderada digestibilidade de matéria orgânica de colmo no período das águas.

As características morfofisiológicas das lâminas foliares avaliadas nos períodos são apresentadas na Tabela 7. Das características morfofisiológicas estudadas, a que melhor distinguiu os genótipos foi a largura da lâmina foliar, pelo seu efeito na AF, uma vez que só a cv. Aruana apresentou comprimento de lâmina foliar inferior (P < 0.05) aos demais.

¹, LIGs = lignina em ácido sulfúrico

², LIGper = lignina em permanganato

Tabela 7. Características morfofisiológicas de lâminas foliares: comprimento, largura, área foliar (AF) e área foliar específica (AFE) de genótipos de *Panicum maximum*, no período das águas e da seca

	especifica (Fit E) de genotipos e		p	
		ÁGUAS	2	2
Genótipos	Comprimento (cm)	Largura (cm)	AF (cm ²)	AFE (cm^2/g)
Aruana	13,2 ^b	$0,5^{d}$	12,1°	78,8 ^a
PM45	$33,3^{a}$	1,0 ^{bcd}	52,7 ^{bc}	160,9 ^a
PM31	38,2 ^a	$0.7^{\rm cd}$	50,7 ^{bc}	$146,3^{a}$
PM43	$33,0^{a}$	$1,0^{\text{abcd}}$	$51,0^{bc}$	$110,6^{a}$
PM44	34,5 ^a	1.2^{abc}	74,8 ^{ab}	$133,2^{a}$
PM37	$37,2^{a}$	$1,0^{\text{bcd}}$	54,7 ^{bc}	$144,6^{a}$
PM47	41,1 ^a	1,4 ^{ab}	$101,3^{ab}$	128,8 ^a
PM33	37,5 ^a	1,5 ^{ab}	$123,0^{a}$	95,3 ^a
Milênio	40,9 ^a	$1,6^{a}$	$130,6^{a}$	189,4 ^a
CV (%)	17,8	18,7	27,6	37,6
Médias	34,3	1,1	72,3	132,0
DMS^1	17,7	0,6	57,9	144,3
		SECA		
Genótipos	Comprimento (cm)	Largura (cm)	$AF (cm^2)$	$AFE (cm^2/g)$
Aruana	19,3 ^a	0,9 ^{abcd}	10,2ª	40,0 ^a
PM45	29,9 ^a	$0.8^{\rm cd}$	15,6 ^a	$51,0^{a}$
PM31	$28,0^{a}$	0.6^{d}	4,5 ^a	$30,7^{a}$

		DECIL		
Genótipos	Comprimento (cm)	Largura (cm)	$AF (cm^2)$	$AFE (cm^2/g)$
Aruana	19,3 ^a	0,9 ^{abcd}	10,2ª	40,0 ^a
PM45	$29,9^{a}$	0.8^{cd}	$15,6^{a}$	$51,0^{a}$
PM31	$28,0^{a}$	$0,6^{d}$	4,5 ^a	$30,7^{a}$
PM43	32,4 ^a	1,2 ^{abcd}	$37,1^{a}$	$57,0^{a}$
PM44	$32,5^{a}$	$1,5^{ab}$	$66,0^{a}$	$100,05^{a}$
PM37	31.8^{a}	0.9^{bcd}	$38,5^{a}$	$48,9^{a}$
PM47	$32,8^{a}$	1,4 ^{abc}	$62,7^{a}$	$101,2^{a}$
PM33	35,1 ^a	$1,6^{a}$	$67,1^{a}$	86,6 ^a
Milênio	$26,2^{a}$	1.4^{abc}	$46,7^{a}$	$105,8^{a}$
CV (%)	18,3	19,6	80,6	51,6
Médias	29,8	1,1	38,7	69,0
DMS^1	15,8	0,7	90,6	103,4

^{a, b, c, d} médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%;

Foi encontrada maior largura de lâmina foliar para os genótipos PM33, PM47, e para a cv. Milênio, 1,5 cm em média, relativamente à cv. Aruana (0,5 cm); resultando em maior AF para esses genótipos, média de 118,3 cm².

A cv. Milênio foi ainda superior em largura ao PM45, PM37 e PM31; e em AF, além desses, ao PM43. O PM33 e PM47 tiveram folhas mais largas que o genótipo PM31, porém somente o PM33 apresentou relativamente maior AF, pois o PM47 foi comparativamente semelhante ao PM31. O PM43 mostrou valor intermediário em largura (1,0cm),

¹, DMS = Diferença mínima significativa.

comparativamente igual a todos os genótipos. Para a AF, a média obtida para os genótipos intermediários foi de 52,3 cm².

A cv. Aruana registrou o menor comprimento de lâmina foliar entre os genótipos, e folha mais estreita, mas semelhante (P>0,05) aos PM45, PM31, PM37 e PM43, o que resultou conseqüentemente, menor AF em relação à cv. Milênio, ao genótipo PM33 e aos genótipos PM47 e PM44.

O genótipo PM33 e a cv. Milênio, classificados como plantas de porte alto e folhas eretas, apresentaram folhas mais largas que os genótipos PM37 e PM31, também eretas, porém de porte médio e baixo, respectivamente.

Os genótipos apresentaram AFE similar sendo em média de 132,0 cm²/g, mas para está característica o coeficiente de variação foi elevado (37,6%). Embora tenha utilizado a penúltima lâmina foliar expandida, não foi monitorada a ordem da lâmina no perfilho, o que pode ter contribuído para o alto coeficiente de variação obtido. Estudos são necessários para se verificar o efeito da ordem da lâmina no perfilho nas características morfofisiológicas, visto que o número de lâmina no perfilho é uma característica genética (Langer, 1963).

Das características morfofisiológicas estudadas para as lâminas na seca, somente a largura diferiu entre os genótipos, e foram variações equivalentes às observadas no período das águas. O genótipo PM31 exibiu folha mais estreita em relação ao PM33, ao PM44 e PM47, e à cv. Milênio. O genótipo PM44 também foi superior em largura ao PM45 e ao PM31. Valores médios em largura situaram-se entre 0,9 e 1,2 cm. Verificou-se que as diferenças em largura não resultaram em variação da AF, porém a AF e AFE no período da seca apresentaram coeficiente de variação muito alto.

Folhas crescidas no inverno tendem a ter menor teor de FDA e lignina que aquelas crescidas no verão (Wilson & Hacker, 1987). Geralmente, tanto os teores de parede celular, como lignina são positivamente correlacionados com AFE (Wilson & Hattersley, 1989). Portanto, como a largura não alterou acentuadamente entre água e seca (Tabela 7), podemos inferir que a menor AFE obtido na seca em relação às águas, podem ser em decorrência dos teores de parede celular, FDA e lignina inferiores nesse período.

Menor de desenvolvimento foliar à baixa temperatura, pode ter resultado em relativamente menor comprimento da folha na seca, também colaborando para menor AF no período.

Os resultados obtidos para proporção de tecidos nos fragmentos das lâminas indicaram diferenças (P<0,05) entre os genótipos para EPIaba e MES nas águas, e EPIada, EPIaba e TV na seca (Tabela 8).

Tabela 8. Médias da proporção de tecidos: epiderme adaxial (EPIada), epiderme abaxial (EPIaba), tecido vascular (TV), bainha parenquimática dos feixes (BPF), esclerênquima (ESC) e mesofilo (MES) na seção transversal de fragmentos de lâminas foliares de genótipos de *Panicum maximum*, no período das águas e da seca

			ÁGUAS					
Genótipos	EPIada	EPIaba	TV	BPF	ESC	MES		
1	(% Seção transversal)							
Aruana	20,3 ^a	11,9 ^a	4,9 ^a	32,2 ^a	1,4 ^a	29,5°		
PM45	-	-	-	-	-	-		
PM31	$18,7^{a}$	9,8 ^{ab}	7.8^{a}	$33,1^{a}$	$2,0^{a}$	$28,6^{c}$		
PM43	$18,0^{a}$	$12,2^{a}$	$5,0^{a}$	$30,5^{a}$	$1,0^{a}$	33,4 ^{ab}		
PM44	18,1 ^a	$10,2^{ab}$	3.5^{a}	$33,1^{a}$	1,2 ^a	33.9^{ab}		
PM37	$19,2^{a}$	$10,6^{ab}$	5,2 ^a	$32,0^{a}$	2,1 ^a	$31,0^{bc}$		
PM47	$18,3^{a}$	8.8^{b}	$4,2^{a}$	$33,5^{a}$	1,5 ^a	33,7 ^{ab}		
PM33	$17,4^{a}$	8,2 ^b	3,5 ^a	$33,3^{a}$	1,2 ^a	$36,4^{a}$		
Milênio	$16,3^{a}$	$10,3^{ab}$	4,4 ^a	34,8 ^a	1,7 ^a	$32,5^{b}$		
CV (%)	7,6	8,2	30,3	5,6	26,4	3,2		
Médias	18,3	10,3	4,8	32,8	1,5	32,4		
SECA								
Genótipos	EPIada	EPIaba	TV	BPF	ESC	MES		
	(% Seção transversal)							
Aruana	20,8 ^{ab}	10,9 ^a	3,8 ^b	27,6 ^a	1,7ª	35,2ª		
PM45	$22,5^{a}$	$10,2^{ab}$	$6,0^{ab}$	$27,3^{a}$	2,4 ^a	$31,5^{a}$		
PM31	20.8^{ab}	$11,0^{a}$	4.6^{ab}	$27,4^{a}$	2,5 ^a	$33,5^{a}$		
PM43	20.2^{ab}	9.8^{ab}	5.4 ^{ab}	$29,7^{a}$	$1,7^{a}$	$33,3^{a}$		
PM44	17.3 ^b	$10,2^{ab}$	$5,6^{ab}$	$29,5^{a}$	1,8 ^a	$35,5^{a}$		
PM37	$19,6^{ab}$	$9,7^{ab}$	7.3^{a}	$29,4^{a}$	$2,6^{a}$	$31,7^{a}$		
PM47	18.8^{ab}	$10,2^{ab}$	4 4 ^{ab}	$29,7^{a}$	1,8 ^a	$34,9^{a}$		
PM33	$19,6^{ab}$	$7,9^{\rm b}$	$6,0^{ab}$	$30,6^{a}$	$2,0^{a}$	33.8^{a}		
Milênio	18,7 ^{ab}	$8,9^{ab}$	$6,2^{ab}$	32,1 ^a	1,9 ^a	$31,8^{a}$		
CV (%)	9,0	8,6	21,7	5,7	21,7	4,7		
Médias	19,8	9,9	5,5	29,3	2,0	33,5		
DMS ¹	5,2	2,5	3,5	4,8	1,3	4,6		

^{a, b, c} médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

¹ Diferença mínima significativa.

Nas águas a proporção de EPIada dos genótipos estudados foi em média de 18,3% à exceção de PM45. Enquanto na seca verificou-se diferença entre PM45 (22,5%) e PM44 (17,3%), e os demais apresentaram em média 19,8%.

A proporção de EPIaba nos genótipos PM33 e PM47, em média 8,5%, foi inferior à cv. Aruana e PM43 nas águas. Os outros genótipos apresentaram em média 10,2%. Na seca, o PM33 diferiu significativamente da cv. Aruana e do genótipo PM31, em média 38,6% e 39,2 %, respectivamente inferior; os demais exibiram em média 9,8%.

As paredes externas das células da epiderme tornam-se espessas, lignificadas e cobertas com uma camada de cutícula e cera, à medida que se desenvolvem; sendo mais pronunciado na EPIaba que na EPIada (Wilson, 1993).

No período das águas não ocorreram diferenças para a proporção de TV, em média 4,8%. Quanto a este tecido destacou-se o PM31 com alto valor (7,8%), mas para este caractere, o coeficiente de variação apresentou-se alto. Já no período seco ocorreu diferença entre cv. Aruana (3,8%) e PM37 (7,3%), sendo observado 5,4% em média para os outros genótipos.

Os genótipos não diferiram entre si quanto às proporções de BPF e ESC nos dois períodos avaliados. Em média apresentaram 32,8% e 1,5% nas águas, e 29,2% e 2,0% na seca respectivamente.

Gramíneas tropicais além de possuírem alta proporção de tecidos rígidos e lignificados (ESC e TV) que atuam como barreira estrutural à digestão pelos microorganismos, também apresentam as células da BPF com duas paredes, que constituem os tecidos foliares parcialmente degradados (Akin, 1989).

As proporções encontradas para BPF e TV, estão em concordância com os já relatados na literatura para a espécie (Wilson et al., 1983). E as maiores proporções de BPF e TV observadas na seca em relação às águas podem estar relacionadas às menores temperaturas ocorridas no período (Wilson et al., 1991).

Os genótipos não variaram estatisticamente quanto à proporção de ESC nos dois períodos, provavelmente em razão do alto coeficiente de variação obtido. Porém observou-se uma ligeira maior proporção de ESC na seca, em relação ao período das águas respectivamente 2,0 e 1,5 %, período este em que ocorreu menor proporção de colmo, exceção PM31, e menor valor de AF.

Como a proporção de tecidos na lâmina foliar parece não mudar com a idade (Wilson, 1976), e as plantas, apresentarem proporcionalmente maior proporção de colmo nas águas que na seca, é possível que as lâminas foliares tenham exercido uma menor função estrutural, e portanto menor proporção de ESC nas águas em relação à seca.. Van Soest (1994) citou que uma das diferenças entre lâminas de gramíneas C_3 e C_4 , é que nas C_4 estas também exercem função estrutural na planta.

Entretanto, os dados da proporção de ESC obtidos são consistentes com os relatados para *P. maximum* em outros trabalhos (Wilson et al., 1983; Lempp et al., 1997 e 2004).

Mesmo não variando significativamente, pode-se observar que os genótipos PM31, PM37, e a cultivar Milênio apresentaram maior proporção de ESC na seção transversal da lâmina foliar nas águas em relação aos demais avaliados. Estes exibem folhas com arranjo mais ereto no perfilho e assim as lâminas podem exercer maior função estrutural, o que é atribuído principalmente ao ESC, tecido de sustentação, ou ao ESC e TV associados.

Os resultados obtidos para MES no período das águas já podem permitir alguma inferência de valor nutritivo entre os genótipos. As células de MES que apresentam parede delgada, facilmente e extensivamente degradada (Hanna et al., 1973), prontamente disponibilizariam seu conteúdo celular aos microorganismos do rúmen.

Sendo assim, cultivares com maiores proporções de MES, também teriam maior potencial de digestibilidade e consumo. Na seca, não foram observadas diferenças significativas na proporção de MES entre os genótipos.

Na análise canônica utilizando variáveis morfofisiológicas e anatômicas da forragem, somente o primeiro par canônico mostrou diferença significativa (P<0,001) e explicou 67% da variação dos dados (Tabela 9).

Tabela 9: Correlações canônicas e pares canônicos estimados entre as variáveis morfofisiológicas: comprimento de folha, largura de folha, área foliar e área foliar especifica; e anatômicas da forragem: epiderme adaxial (EPIada), epiderme abaxial (EPIaba), tecido vascular (TV), bainha parenquimática dos feixes (BPF), esclerênquima (ESC), mesofilo (MES) de lâminas foliares de genótipos de *Panicum maximum*

Variáveis	Pares canônicos					
	1°	2°	3°	4°		
	Cara	Características morfofisiológicas				
Comprimento	-0,6975	-0,0005	0,7143	0,0572		
Largura	-0,9169	-0,1294	-0,1360	-0,3521		
Área foliar	-0,9220	0,3730	0,1028	0,0136		
Área foliar especifica	-0,4913	0,6721	0,3236	-0,4496		
	(Características anatômicas				
EPIada	0,6559	-0,4098	-0,3649	0,0912		
EPIaba	0,6911	0,4512	-0,2369	0,1679		
T.V.	0,1535	-0,2751	0,6786	-0,5351		
BPF	-0,4938	0,7394	0,3425	0,0073		
ESC	0,2695	-0,5795	0,5669	0,2205		
MES	-0,5727	-0,4138	-0,5409	0,2361		
Auto valores	2,24	0,82	0,18	0,06		
Proporção de explicação (%)	67	24	5	1		
r_{c}	0,83	0,67	0,39	0,24		
Significância (p)	p<0,0001***	p<0,0023**	NS	NS		

*** P< 0,001, **P< 0,01, *P<0,05

As variáveis que deram a maior contribuição à discriminação canônica no primeiro par, exibindo os maiores coeficientes canônicos derivados das combinações lineares entre os atributos, foram nessa ordem: área foliar, largura comprimento, EPIaba, EPIada, MES e BPF.

Então pela correlação canônica podemos verificar que a largura e AF, são os componentes canônicos que melhor discriminaram entre as características morfofisiológicas, e ratificou a correlação linear encontrada entre largura e MES; e AF com BPF (Tabela 10).

Tailillas Ioliai	es de 1 anicum maximum	ri .		
Proporção de tecidos		Características m	norfofisiológicas	_
	Comprimento	Largura	AF^7	AFE ⁸
	(cm)	(cm)	(cm^2)	(cm^2/g)
EPIada ¹	-0,48***	-0,45**	-0,62***	-0,51***
EPIaba ²	-0,46***	-0,56***	-0,41**	-0.12^{NS}
TV^3	0.09^{NS}	-0,08 ^{NS}	-0,16 ^{NS}	-0,04 ^{NS}
BPF^4	0,38**	0,29*	0,58***	0,58***
ESC^5	0.00^{NS}	-0,20 ^{NS}	-0,33*	-0,32*
MES^6	0.18^{NS}	0,48**	0,31*	$-0.05^{\rm NS}$

Tabela 10. Coeficientes de correlação linear entre proporção de tecidos e características morfofisiológicas de lâminas foliares de *Panicum maximum*

¹, Epiderme adaxial, ², epiderme abaxial, ³, tecido vascular, ⁴, bainha parenquimática dos feixes, ⁵, esclerênquima, ⁶, mesofilo, ⁷, área foliar, ⁸, área foliar específica *** P< 0.001, **P< 0.01, *P<0.05.

Em *Festuca arundinacea*, a característica morfológica foliar mais associada com a preferência animal foi a largura da lâmina, e a esta, foi atribuída a maior proporção de MES (MacAdam & Mayland, 2003). Neste estudo, a característica morfológica que melhor se correlacionou com a proporção de MES foi a largura (r=0,48; P<0,01). Dos genótipos avaliados pode-se observar, por exemplo, que o PM33 caracterizado como de folha larga, apresentou alta proporção de MES na seção transversal da lâmina foliar, sendo em valores superior à de BPF (Tabela 7 e 8).

O ESC que desenvolve parede secundária espessa e em lâminas foliares de gramínea, são dispostas acima e abaixo dos feixes vasculares (Wilson, 1993), mostrou correlação linear negativa com AF e AFE.

As células de BPF apresentam maior volume do que o ESC e TV juntos (Wilson, 1997), e sua presença triplica o volume dos feixes vasculares (Wilson et al., 1989c). Os resultados da análise da proporção de tecidos indicam maior proporção de BPF nas lâminas do que ESC + TV, explicando, portanto a correlação entre BPF e AFE (r = 0,58; P<0,001).

Wilson et al. (1989a) verificaram que genótipos de *Cenchrus ciliaris* com folhas mais pesadas e alta AFE (g de MS/ cm²) foram associados com maiores proporções de tecidos de paredes espessas (BPF+TV+ ESC) na seção transversal da lâmina foliar.

Neste estudo a associação de valores elevados de comprimento, largura, AF e AFE da lâmina foliar com a relativamente maior proporção de BPF foi verificado na cv. Milênio nos

dois períodos. No período da seca, não foram encontradas consistências nos dados obtidos quanto à associação da alta AFE com a maior proporção de BPF, TV e ESC, para os demais genótipos.

Wilson et al. (1989a) registraram para *Cenchrus ciliares* maior DIVMS nas lâminas decumbentes quando comparados às eretas. Neste estudo o genótipo PM43, classificado morfologicamente como decumbente, exibiu maior DIVMO da lâmina foliar no período das águas, diferindo estatisticamente da cv. Milênio, caracterizada como ereta. Porém, não há como afirmar que *P. maximum* com lâminas decumbentes possam ser superiores às eretas em DIVMO, pois o PM44, decumbente, apresentou digestibilidade similar à cv. Milênio, e inferior ao PM43 (Tabela 5).

No entanto a diferença na DIVMO entre PM44 e PM43 pode ser atribuída à digestão da BPF (Tabela 8), visto que estas células, por possuírem parede celular espessa, lenta taxa de digestão podendo ser parcialmente digestíveis; e que quando associadas ao ESC e TV, são parcialmente digestíveis ou indigestíveis (Akin, 1989). Wilson (1993) citou que as células da BPF contribuem para a maior proporção de resíduos indigestíveis, o que poderia refletir negativamente na qualidade da lâmina.

Na Tabela 11 são apresentados os coeficientes de correlação entre os atributos químicos e a proporção de tecidos na lâmina foliar. A BPF proporcionou a melhor correlação linear com as entidades químicas; significativas e positivas com teores de FDN, FDA, LIGper e CEL. Resultados semelhantes também foram relatados por Wilson & Hattersley (1989) e Queiroz et al. (2000).

Tabela 11. Coeficientes de correlação linear entre composição química e proporção de tecidos de lâminas foliares de *Panicum maximum*

Composição química	Proporção de tecidos					
	EPIada ⁹	EPIaba ¹⁰	TV^{11}	BPF ¹²	ESC^3	MES ¹⁴
PB^1	0,18 ^{NS}	-0,26*	-0,02 ^{NS}	-0,23 ^{NS}	$0.03^{\rm NS}$	0,26*
FDN^2	-0,14 ^{NS}	$0,19^{NS}$	-0.08 NS	0,50***	-0,32*	-0,39**
FDA^3	-0.23 NS	-0,10 ^{NS}	-0,18 ^{NS}	0,30*	0.10^{NS}	-0.22^{NS}
DIVMO ⁴	0,24*	0.10^{-NS}	-0,01 ^{NS}	-0,27*	0.16^{NS}	0.02^{NS}
LIGS ⁵	$0.10^{\rm NS}$	-0,26*	0,26*	-0,19 ^{NS}	0,32*	0.04^{NS}
$LIGP^6$	-0.23 NS	$-0.00^{ m NS}$	-0,08 ^{NS}	0,37**	-0,27*	-0.13^{NS}
CEL^7	-0,17 ^{NS}	0.10^{-NS}	$0,11^{NS}$	0,42**	0.02^{NS}	-0,43**
SIL ⁸	0.08^{NS}	-0,24*	-0,04 ^{NS}	-0,35*	$0,04^{NS}$	0,46***

¹, Proteína bruta, ², fibra em detergente neutro, ³, fibra em detergente ácido, ⁴, digestibilidade, ⁵, lignina em ácido sulfúrico, ⁶, lignina em permanganato, ⁷, celulose, ⁸, sílica, ⁹, epiderme adaxial, ¹⁰, epiderme abaxial, ¹¹, tecido vascular, ¹², bainha parenquimática dos feixes, ¹³, esclerênquima, ¹⁴, mesofilo, *** P< 0,001, **P< 0,01, *P<0,05

Levando-se em conta que a BPF apresenta espessamento de parede secundária e lignificação, é esperada a associação positiva com teores de fibra da forrageira (CEL, FDN e FDA), e pode explicar a correlação linear negativa observada entre a BPF e DIVMO nas lâminas. Alta DIVMO correlacionou-se com baixa proporção de BPF e TV (Ehlke & Casler, 1985; Wilson et al., 1989a), e alta de MES; não se correlacionando com a proporção de ESC (Wilson & Hattersley, 1989).

O efeito da BPF na digestibilidade da lâmina foliar dependerá não somente de sua taxa de digestão, mas também da proporção compreendida na folha, e da relação BPF:MES, maior componente digestível das folhas de gramíneas (Wilson & Hattersley, 1983). Em geral, nas gramíneas tropicais a proporção de MES é superior à da BPF (Wilson et al., 1983); porém em estudos anatômicos de lâminas foliares de *Panicum maximum*, cv. Massai, no período das águas, foram observadas proporções de BPF superiores às de MES aos 28, 42 e 35 dias, à exceção das plantas aos 49 dias de idade (Lempp et al., 2004).

As cvs. Milênio e Aruana, os genótipos PM37 e PM31 apresentaram proporções de BPF, relativamente superiores as de MES no período das águas. O genótipo PM43 apresentou maior DIVMO que a cv. Milênio nas águas, como também menor relação BPF:MES, e menores teores de FDA, LIGs, LIGper e CEL; entretanto, não diferenciaram em largura.

Ocorreu correlação significativa entre LIGs e as proporções de ESC e TV, em decorrência da espessura de suas paredes celulares com acentuada lignificação; estando em concordância com outras avaliações (Wilson & Hattersley, 1989; Queiroz et al., 2000).

Lignina atrasa a hidrólise das células da epiderme e ESC, e previne ainda a digestão de tecidos vasculares (Harbers et al., 1981), portanto a lignina presente nos órgãos e tecidos como componente estrutural, pode produzir efeito negativo na digestibilidade da fibra.

A correlação negativa obtida entre MES e os teores de FDN e CEL na lâmina foliar, foram condizente com aquelas observadas em outros trabalhos (Wilson et al., 1983; Queiroz et al., 2000). A significante e positiva correlação entre MES e PB (P<0,05), pode ser pelo fato desse tecido, possuir alta concentração de enzimas relacionadas à fotossíntese. As células da BPF também possuem alto teor de PB, no entanto, neste estudo não se verificou correlação significativa com PB, indicando que para os genótipos avaliados o MES contribuíu mais no teor de PB das lâminas, que as células da BPF.

A análise canônica entre as características anatômicas e químicas também constatou a relação verificada pela correlação linear entre a proporção de tecidos e as entidades químicas (Tabela 12). A análise mostrou correlação significante entre as características somente no primeiro par canônico, descrevendo 56% das variações totais dos dados.

Tabela 12. Correlações canônicas e pares canônicos estimados entre as variáveis anatômicas da forragem: epiderme adaxial (EPIada), epiderme abaxial (EPIaba), tecido vascular (TV), bainha parenquimática dos feixes (BPF), esclerênquima (ESC), mesofilo (MES); e químicas da forragem: matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), digestibilidade (DIVMO) lignina em ácido sulfúrico (LIGs), lignina permanganato (LIGPper), celulose (CEL) e sílica (SIL) de lâminas foliares de genótipos de *Panicum maximum*

Variáveis	Pares canônicos					
	1°	2°	3°	4°	5°	6°
	Características anatômicas					
EPIada	-0,1477	0,2311	-0,6696	-0,3770	0,2720	0,5116
EPIaba	0,1712	0,0329	0,2500	-0,9419	0,0846	-0,1131
T.V.	-0,2295	0,3581	0,1784	0,3857	0,7886	-0,1294
BPF	0,6907	-0,0989	0,5053	0,4446	-0,2441	0,0222
ESC	-0,6166	0,6275	0,2406	0,1379	-0,1749	0,3444
MES	-0,4076	-0,4374	-0,3750	0,0457	-0,5587	-0,4332
	Características químicas					
MO	0,7044	0,4012	0,3929	-0,2193	0,2799	0,0780
PB	-0,2781	-0,2100	-0,5546	0,3013	-0,0797	0,3278
FDN	0,8321	0,1838	0,2538	-0,0753	0,0657	0,0425
FDA	0,2168	0,3769	0,4032	0,4534	0,0192	-0,2936
DIVMO	-0,2307	0,1780	-0,2008	-0,3694	0,0264	0,4273
LIGs	-0,3457	0,4249	-0,2108	0,4464	0,1465	-0,1079
LIGper	0,3969	-0,3688	0,3219	0,1993	0,0615	0,2452
CEL	0,5442	0,5941	0,4536	0,1206	0,0395	-0,0319
SIL	-0,5629	-0,5058	-0,4344	0,2178	-0,1373	-0,2296
Auto valores	1,87	0,58	0,44	0,29	0,10	0,03
Proporção de	56	17	13	8	3	1
explicação (%)						
r_c	0,80	0,60	0,55	0,47	0,30	0,19
Significância (p)	p<0,0013***	NS	NS	NS	NS	NS

*** P< 0,001, **P< 0, 01, *P<0, 05

Os coeficientes canônicos de maior contribuição no primeiro par canônico são: teor de FDN, teor de matéria orgânica, proporção de BPF e ESC; seguidos de SIL, CEL e MES. Sendo assim encontramos que maior proporção de BPF, menores de ESC, MES e TV relacionam-se aos maiores teores de FDN, CEL, LIGP e menor teor de SIL.

A deposição de sílica é resultante da absorção de água pela planta onde se encontra dissolvida, e é acumulada nos tecidos da planta pela transpiração. É de se esperar que em um arranjo mais compacto das células de MES, onde uma proporção substancial de água transpira diretamente, possa estar relacionado ao maior teor de sílica. Esta talvez seja uma explicação para correlação linear positiva (P<0,001) e canônica (P<0,001) encontrada entre MES e teor de sílica.

Entretanto, as células de MES não acumulam muita sílica; talvez sejam impedidas de fazê-lo por estarem envolvidas na fotossíntese. Consequentemente essa observação apóia a hipótese de que a absorção e deposição de sílica nos tecidos são controladas pelas plantas. A maioria das gramíneas acumula sílica na epiderme (Motomura et al., 2004).

Harbers et al. (1981) encontraram sílica localizada nas células da EPIada acima dos TV, enquanto que na EPIaba foi detectada em todas as células, mantendo a cutícula abaxial intacta após 24 horas de permanência no líquido ruminal. Lempp et al. (1998) observaram que a sílica e a cutícula presente na epiderme atuaram como uma barreira física para colonização microbiana na lâmina foliar.

Neste estudo, foi observado correlação linear negativa da EPIaba com o teor de sílica. A mesma associação foi verificada na correlação canônica, também positiva da SIL com a EPIada, mas o com baixo coeficiente. Da mesma forma que a lignina, a sílica como componente estrutural de alguns tecidos, pode estar relacionada à redução em digestibilidade (Harbers et al., 1981).

A influência da estrutura girder na resistência física da lâmina foliar à degradação digestiva em *Brachiaria brizantha*, verificados por Lempp et al. (2005), foi atribuída à epiderme "stegmata". O termo stegmata tem sido aplicado quando as células da epiderme contendo sílica cobrem as fibras de esclerênquima associado ao tecido vascular como capas ou girder (Prychid et al., 2003).

Já a estrutura girder é designada para o arranjo entre as células da epiderme e a BPF, por meio de células de ESC, o que pode justificar a correlação canônica positiva encontrada entre a proporção de ESC e o teor de SIL nas lâminas foliares.

A Tabela 13 apresenta os coeficientes de correlação linear obtidos entre as características químicas e morfofisiológicas das lâminas. Das características morfofisiológicas, a que se correlacionou significativamente com o maior número de características químicas foi a

AFE; sendo positivamente correlacionada com FDN, FDA, LIGper e CEL, e negativamente com PB, DIVMO e SIL. Wilson & Hattersley (1989) observaram que a alta digestibilidade de matéria seca foi fortemente associada com folha pequena e menor AFE.

Tabela 13. Coeficientes de correlação linear entre composição química e características morfofisiológicas de lâminas foliares de *Panicum maximum*

Composição	Características morfofisiológicas					
química	Comprimento (cm)	Largura (cm)	AF^9 (cm ²)	AFE^{10} (cm ² /g)		
PB^1	-0,20 ^{NS}	0,31*	-0,03 ^{NS}	-0,30*		
FDN^2	0.17^{NS}	-0.22^{NS}	0,25*	0,40**		
FDA^3	0,49***	-0.08 NS	0,26*	0,39**		
DIVMO^4	-0,27*	$-0.03^{\rm NS}$	-0,24*	-0,33*		
LIGs ⁵	0,30*	$0.07^{\rm NS}$	-0,01 ^{NS}	-0,06 ^{NS}		
LIGper ⁶	0.08 $^{\mathrm{NS}}$	-0.14^{NS}	0.17^{NS}	0,31*		
CEL^7	0,32*	-0,21 ^{NS}	0,25*	0,39**		
SIL^8	-0,17 ^{NS}	0,25*	-0,18 ^{NS}	-0,25*		

¹, Proteína bruta, ², fibra em detergente neutro, ³, fibra em detergente ácido, ⁴, digestibilidade, ⁵, lignina em ácido sulfúrico, ⁶, lignina em permanganato, ⁷, celulose, ⁸, sílica, ⁹, área foliar, ¹⁰, área foliar específica *** P< 0,001, **P< 0,01, *P<0,05

Considerando seleção de genótipos de *Cenchrus ciliares* para maior digestibilidade da lâmina foliar, Wilson et al. (1989a) identificaram como critério, folhas pequenas e com menor AFE, como características morfofisiológicas facilmente mensuráveis e fortemente correlacionadas com a digestibilidade.

Por outro lado, Casler & Carpenter (1989) selecionando materiais superiores para digestibilidade de lâmina em *Bromus inermis* Leyss., observaram que genótipos de alta digestibilidade tiveram folhas mais longas e mais espessas, características morfológicas que proporcionaram maior AF e menor AFE.

Em genótipos de *Digitaria milanjiana* selecionados com base na digestibilidade das lâminas, relacionados à composição química, características anatômicas e morfológicas, Masaoka et al. (1991) encontraram correlações negativas da digestibilidade com comprimento. Entretanto as diferenças morfológicas das folhas foram pequenas e inconsistentes quando comparadas às variações em digestibilidade entre os genótipos.

De acordo com os relatos da literatura, parece que há diferenças quanto à influência de características morfofisiológicas de lâminas foliares e DIVMO, entre espécies C₃ e C₄.

Os resultados encontrados pela correlação canônica estão em concordância com os verificados pela correlação linear. Na correlação canônica estimada entre as variáveis

morfofisiológicas e químicas, os coeficientes obtidos explicaram 59% da variação dos dados do primeiro par canônico (P< 0,001), demonstrando que quanto menor a AFE, AF e o comprimento, e maior a largura; menor os teores de FDN, CEL, LIGP e de FDA; e maior o teor de PB e a DIVMO (Tabela 14).

Tabela 14. Correlações canônicas e pares canônicos estimados entre as variáveis morfofisiológicas: comprimento de folha, largura de folha, área foliar e área foliar especifica e química da forragem: proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), digestibilidade (DIVMO) lignina em ácido sulfúrico (LIGs), lignina permanganato (LIGper), celulose (CEL) e sílica (SIL) de lâminas foliares de genótipos de *Panicum maximum*

Variáveis		Pares canônicos				
	1°	2°	3°	4°		
	Cara	cterísticas mor	fofisiológica	as		
Comprimento	0,2611	-0,6947	0,6496	0,1652		
Largura	-0,2325	0,0724	0,8288	0,5037		
Área foliar	0,4206	0,0115	0,8684	0,2622		
Área foliar especifica	0,6120	-0,1220	0,2459	0,7417		
		Características	químicas			
PB	-0,6441	0,4176	0,4630	0,0010		
FDN	0,8851	-0,0366	-0,0876	-0,1327		
FDA	0,6103	-0,6596	0,1444	0,0958		
DIVMO	-0,4302	0,2297	-0,1726	-0,3874		
LIGs	-0,2267	-0,6168	0,2021	-0,0919		
LIGper	0,6196	0,0538	-0,115	0,1127		
CEL	0,8109	-0,3690	-0,0281	-0,1899		
SIL	-0,7473	0,1234	0,0738	0,5349		
Auto valores	1,82	0,91	0,59	0,59		
Proporção de explicação (%)	59	29	8	3		
r_{c}	0,80	0,290,69	0,44	0,29		
Significância (p)	p<0,0001***	p<0,0081**	NS	NS		

^{***} P< 0,001, **P< 0, 01, *P<0, 05

De um modo geral, a DIVMO da lâmina foliar correlacionou-se negativamente com BPF, AF e AFE. E os teores de FDN, FDA, CEL e LIG foram associados positivamente com as características morfofisiológicas neste estudo, como também por Wilson & Hattersley, (1989) e Wilson et al. (1989a).

Entretanto, pela correlação canônica, a variável morfológica que melhor distinguiu entre os genótipos foi a AFE; e entre os componentes químicos, foram os teores de FDN e CEL.

É importante destacar que das características químicas, a FDN correlacionou-se bem tanto com as variáveis anatômicas quanto com as varáveis morfofisiológicas. Hanna et al. (1976)

avaliando *Cynodon* spp., encontraram que, baixos teores de FDN foram obtidos para clones de alta qualidade, o que indicou uma maior fração solúvel resultando em maior digestibilidade.

A associação positiva da largura com a maior proporção de MES e menor teor de FDN, FDA, LIGper, CEL; indica que lâminas mais largas possuem maior teor de conteúdo celular, relacionados à maior DIVMO da lâmina foliar. Portanto, essa característica morfológica pode ser um indicador fenotípico discriminante para seleção de forragem baseados em indicativos de qualidade.

Nos estudos de MacAdam & Mayland (2003) com *Festuca arundinacea*, a preferência animal foi associada à largura da lâmina foliar e a esta, a maior proporção de MES. E Mayland et al. (2000) determinaram que teores de carboidratos não estruturais (solúveis) foram positivamente correlacionados com a preferência animal.

Os resultados obtidos neste estudo indicaram que as variações na DIVMO foliar foram relacionadas às características morfofisiológicas: comprimento, AF e AFE (Tabelas 13 e 14), anatômicas: EPIada e BPF (Tabelas 11 e 12).

Na correlação canônica também se observou a relação do acúmulo de MST e MSVLF com as características químicas das lâminas (Tabela 15). O primeiro par canônico indicou diferença entre as variáveis e explicou 80% da variação dos dados. As características avaliadas que mais discriminaram os genótipos foram: MST, MSVLF, FDN, CEL e PB. Assim quanto maior o acúmulo de MST e de MSVLF, maior os teores de FDN, FDA, CEL e LIGP, concomitante redução no teor de PB e na DIVMO das lâminas.

Tabela 15. Correlações canônicas e pares canônicos estimados entre as variáveis químicas da forragem: proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), digestibilidade (DIVMO) lignina em ácido sulfúrico (LIGs), lignina permanganato (LIGper), celulose (CEL) e sílica (SIL); e agronômicas: MST (matéria seca total) e MSLF (matéria seca de lâmina foliar) de lâminas foliares de genótipos de *Panicum maximum*

Variáveis	Pares c	anônicos		
	1°	2°		
	Características químicas			
PB	-0,7016	-0,0825		
FDN	0,8650	-0,0465		
FDA	0,6412	0,5087		
DIVMO	-0,5182	-0,2179		
LIGs	-0,1755	0,6652		
LIGper	0,6865	0,0720		
CEL	0,8041	0,2441		
SIL	-0,6882	0,0886		
	Característica	is agronômicas		
MST	0,9999	0,0149		
MSVLF	0,9807	0,1955		
Auto valores	2,77	0,67		
Proporção de explicação (%)	80	19		
r_{c}	0,85	0,63		
Significância (p)	p<0,0001***	p<0,0021**		

*** P< 0,001, **P< 0, 01, *P<0, 05

Como exemplo, no período das águas o genótipo PM31 com maior acúmulo de MSVLF que a cv. Aruana (Tabela 4) apresentou menor teor de PB, maiores teores de FDA, LIGs e CEL, e menor valor de DIVMO (Tabela 5).

As características agronômicas também apresentaram boa associação com os atributos morfofisiológicos, refletidos numa correlação linear significativa entre esses caracteres (Tabela 16).

Tabela 16. Coeficientes de correlação linear entre características agronômicas e características morfofisiológicas de lâminas foliares de *Panicum maximum*

Características	Características morfofisiológicas				
agronômicas	Comprimento (cm)	Largura (cm)	AF^3 (cm ²)	AFE^4 (cm ² /g)	
MST ¹	0,35**	-0,06 ^{NS}	0,41**	0,51***	
MSVLF ²	0,43**	-0,01 ^{NS}	0,44***	0,54***	

¹, Matéria seca total, ², matéria seca verde de lâmina foliar, ³, área foliar, ⁴, área foliar específica, , *** P< 0,001, **P< 0,01, *P<0,05

O coeficiente de correlação obtido entre o acúmulo de massa e largura das lâminas não foi significativo, o que poderá indicar que ao se utilizar largura como indicador fenotípico

para seleção qualitativa, não necessariamente estaria eliminando genótipos com alto potencial de produção.

A mais forte dessas associações foi da AFE com MSVLF. Considerando que com maior acúmulo de MST e de MSVLF, maior serão os componentes estruturais da parede celular relacionado ao teor de fibra da forragem, contribuindo para aumento do peso seco da lâmina foliar, refletindo na e AFE.

Pela análise da correlação canônica (Tabela 17), também se verifica a forte relação das características agronômicas com os atributos morfofisiológicos, especialmente da AFE. O valor das características é mostrado no primeiro par canônico, explicando 84% da variação dos dados com uma alta significância.

Tabela 17. Correlações canônicas e pares canônicos estimados entre as variáveis morfofisiológicas: comprimento de folha, largura de folha, área foliar e área foliar especifica e agronômicas: MST (matéria seca total) e MSVLF (matéria seca de lâmina foliar) de lâminas foliares de genótipos de *Panicum maximum*

Variáveis	Pares canônicos			
	1°	2°		
	Características m	orfofisiológicas		
Comprimento	0,5911	0,7974		
Largura	-0,0157	0,5583		
Área foliar	0,5999	0,3382		
Área foliar especifica	0,7215	0,1793		
	Características agronômicas			
MST	0,9788	-0,2050		
MSVLF	0,9997	-0,0246		
Auto valores	1,32	0,24		
Proporção de explicação (%)	84	15		
$r_{\rm c}$	0,75	0,44		
Significância (p)	p<0,0001***	NS		

^{***} P< 0,001, **P< 0, 01, *P<0, 05

As variáveis que deram maior contribuição à discriminação canônica foram: MSVLF, MST, AFE, AF e comprimento. Assim quanto maior a AF e AFE, maior será o acúmulo de MSV e de MSVLF na forragem.

No período das águas os genótipos que apresentaram maiores acúmulos de massa, relativamente à cv. Aruana, exibiram alta AF, resultando em elevada AFE, apesar deste último caractere não diferir estatisticamente entre os genótipos. Nos resultados da seca não é possível evidenciar essa relação, pois os coeficientes de variação da AF e AFE foram bem elevados.

Utilizando as mesmas variáveis agronômicas quantitativas para estimar a correlação canônica com as variáveis anatômicas (Tabela 18), observamos que somente os primeiros pares canônicos descrevem 81% da variação dos dados, e são significantes estatisticamente.

Tabela 18. Correlações canônicas e pares canônicos estimados entre as variáveis anatômicas da forragem: epiderme adaxial (EPIada), epiderme abaxial (EPIaba), tecido vascular (TV), bainha parenquimática dos feixes (BPF), esclerênquima (ESC), mesofilo (MÊS) e agronômicas: MST (matéria seca total) e MSVLF (matéria seca de lâmina foliar) de lâminas foliares de genótipos de *Panicum maximum*

Variáveis	Pares car	nônicos		
	1°	2°		
	Características anatômicas			
EPIada	-0,5254	-0,0448		
EPIaba	0,3021	-0,8634		
T.V.	-0,1880	0,2397		
BPF	0,8395	0,3776		
ESC	-0,3482	0,3750		
MÊS	-0,4314	-0,1317		
	Características agronômicas			
MST	0,9702	0,2422		
MSVLF	0,9080	0,4191		
Auto valores	1,21	0,26		
Proporção de explicação (%)	81	18		
r_c	0,74	0,46		
Significância (p)	p<0,0001***	NS		

*** P< 0,001, **P< 0, 01, *P<0, 05

As variáveis canônicas que mais contribuem ao par canônico são nessa ordem: MST, MSVLF, BPF, EPIada e MES; e com menores coeficientes, a proporção de ESC, EPIaba e TV. Então maiores proporções de BPF estão relacionadas a maiores acúmulos de MST e MSVLF da forrageira, enquanto que a proporção de MES correlacionou-se negativamente com o acúmulo de massa, MST e MSVLF, em conformidade com os resultados obtidos na correlação linear entre esses atributos (Tabela 19).

Tabela 19. Coeficientes de correlação linear entre caracteres agronômicos e proporção de tecidos de lâminas foliares de *Panicum maximum*

Características			Proporção	o de tecidos		
agronômicas	EPIada ³	EPIaba ⁴	TV^5	BPF^6	ESC^7	MES ⁸
MST^1	-0,38 **	$0,12^{NS}$	-0,10 ^{NS}	0,64***	-0,20 ^{NS}	-0,32*
$MSVLF^2$	-0,36*	0.03^{NS}	-0,08 ^{NS}	0,64***	-0,16 ^{NS}	-0,32*

¹, Matéria seca total, ², matéria seca verde de lâmina foliar, ³, epiderme adaxial, ⁴, epiderme abaxial, ⁵, tecido vascular, ⁶, bainha parenquimática dos feixes, ⁷, esclerênquima, ⁸, mesofilo, *** P< 0,001, **P< 0,01, *P<0,05

A maior taxa de crescimento em gramíneas forrageiras tropicais pode ser em parte devido à estrutura anatômica funcional do modo fotossintético C₄. Essa estrutura, conhecida como anatomia de Kranz, consiste da BPF, um grupo de células especializadas contendo cloroplastos, associados aos tecidos vasculares. Portanto a anatomia de plantas forrageiras C₄ proporciona uma relação positiva da proporção de BPF com acúmulo de massa.

Conclusões

A avaliação da quantitativa da proporção de tecidos indica que os genótipos PM33 e PM43 exibiram as melhores características anatômicas relacionadas à qualidade da lâmina foliar, apresentando elevada proporção de MES. Além disso o PM43 destacou-se entre os genótipos por apresentar atributos químicos indicativos da qualidade da forragem, podendo ser sugerido como opção forrageira.

O genótipo PM45 pode ser sugerido como opção de forrageira por apresentar características agronômicas desejáveis de relação folha: colmo, e de acúmulo de matéria seca, exibindo padrão semelhante nas águas e na seca. Porém é necessário repetir os estudos dos atributos anatômicos, uma vez que não foi avaliado para estas características na época, em razão das lâminas foliares coletadas, serem contaminadas por fungos antes da análise histológica.

A proporção relativa dos tecidos tem sido o atributo anatômico utilizado como indicativo do valor qualitativo das forrageiras. Foram demonstradas correlações significativas entre proporção de tecido, determinada pela seção transversal de lâminas foliares, e alguns componentes químicos (FDN e PB), relacionados à variação em digestibilidade.

A caracterização morfofisiológica das lâminas foliares associadas à determinação da proporção de tecido e da composição química, pode ser utilizada como um critério de seleção adicional, fácil e rapidamente mensurável, na determinação do potencial qualitativo das forrageiras, no processo inicial de seleção em programas de melhoramento.

Diferenças no porte e morfologia da lâmina foliar entre os genótipos nas águas parece não afetar o crescimento e desenvolvimento da planta. Podemos observar que plantas de porte baixo com folhas relativamente mais curtas, PM31 e PM45, foram comparáveis significativamente, em acúmulo de massa, aos genótipos de porte alto e folhas longas, PM33 e Milênio.

Portanto a largura das lâminas foliares de *P. maximum* poderá ser um indicador fenotípico a auxiliar na discriminação de genótipos qualitativamente promissores, permitindo ao mesmo tempo, que se selecionem materiais superiores e com elevado potencial de produção.

Referências Bibliográficas

- AKIN, D.E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. Agronomy Journal, v.81, n.1, p.17-25, 1989.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS AOAC. Official methods of analysis. Arlington, v.1, p.72-74, 1990.
- CASLER, M.D. & CARPENTER, J.A. Morphological and chemical responses to selection for in vitro dry matter digestibility in Smooth Bromegrass. Crop Science, v. 29, p. 924-928, 1989.
- CRUZ, C.D. & REGAZZI, A.J. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético, Viçosa: UFV, 1997, 390 p.
- DAYKIN, M.E. & HUSSEY, R.S. Staining and histopathological techniques in nematology. In: BARKER, K.R.; CARTER, C.C; SASSER, J.N. (Eds.) An advanced treatise on Meloiodyne. Raleigh, North Carolina state University Graphics, p. 39 48, 1985.
- EHLKE, N.J. & CASLER, M.D. Anatomical characteristics of smooth bromegrass clones selected for *in vitro* dry matter digestibility. Crop Science, v. 25, p. 513-517, 1985.
- HAGQUIST, C.W. Preparation and care of microscopy slides. Amuorg Biology Teacher, v. 36, p. 414 417, 1974.
- HANNA, W.W.; MONSON, W.G.; BURTON, G.W. Histological and in vitro digestion study of 1- and 4 week stems and leaves from high and low quality Bermudagrass Genotypes. Agronomy Journal, v. 68, p. 219-222, 1976.
- HANNA, W.W.; MONSON, W.G.; BURTON, G.W. Histological examination of fresh forages leaves after "*in vitro*" digestion. Crop Science, v. 13, n.1, p. 98-102, 1973.

- HARBERS, L.H.; BRAZLE, F.K.; RAITEN, D. J.; et al. Microbial degradation of smooth brome and tall fescue observed by scanning electron microscopy. Journal of Animal Science, v. 51, n. 2, p.439-446, 1981.
- LEMPP, B.; EZEQUIEL, J.M.B.; SANTOS, J.M. et al. Influência das células epidérmicas na fragilidade de lâminas de *Panicum maximum*, Jacq (1). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998. Anais... Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, v.2, p. 207-211, 1998.
- LEMPP, B.; EZEQUIEL, J.M.B.; SANTOS, J.M. et al. Observação da estrutura girder na taxa de digestão dos tecidos em lâminas de *Panicum maximum* Jacq. Cv. Aruana e vencedor. In REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34, 1997, Juiz de Fora. Anais... Juiz de Fora: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 12-14, 1997.
- LEMPP, B.; KICHEIL, A. G.; MIRANDA, C.H.B. et al. Proporção e arranjo de tecidos em lâminas foliares de *Panicum maximum* cv. Massai. . In REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande. Anais... CD-ROM. Forragicultura. FORR-072.
- LEMPP, B.; VALLE, C.B. do; MORAIS, M. das G. et al. Physical impediment towards digestive breakdown in leaf blades of Brachiaria brizantha. In INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 20. University College of Dublin, Ireland, p.233, 2005.
- LANGER, R.H.M. Tillering in herbage grasses. Herbage Abstracts, v. 33, p. 141 148, 1963.
- MacADAM, J.W. & MAYLAND, H.F. The relationship of leaf strength to cattle preference in Tall Fescue cultivars. Agronomy Journal, v. 95, p. 414–419, 2003.
- MASAOKA, Y. WILSON, J.R.; HACKER, J.B. Selecting for nutritive value in *Digitaria milanjiana* 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* (pangola grass). Australian Journal of Experimental Agriculture, v. 31, p. 631 638, 1991.

- MAYLAND, H.F.; SHEWMAKER, G.E., HARRINSON, P.A. et al. Nonstructural carbohydrates in Tall Fescue cultivars: relationship to animal preferece. Agronomy Journal, v. 92, p.1203 1204, 2000.
- MOTOMURA, H.; FUJII, T.; SUZUKI, M. Silica Deposition in relation to ageing of leaf tissues in *Sasa veitchii* (Carrière) Rheder (Poaceae: Bambusoidae), v.93, p. 235-248, 2004.
- PRYCHID, C.J.; RUDALL, P.J.; GREGORY, M. Systematics and biology of silica bodies in monocotyledons. The Botanical Review, v.69, p. 377-440, 2003.
- QUEIROZ, D.S.; GOMIDE, J.A.; MARIA, J. Avaliação da folha e do colmo de topo e base de perfilhos de três gramíneas forrageiras. 2. Anatomia. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 29, n.1, p. 61-68, 2000.
- SAS INSTITUTE. Statistical analysis systems user's guide: Statistical, Version 6.11 ed. Cary: SAS Institute, 1997.
- TILLEY, J.M.A & TERRY, R.A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. Journal of the British Grassland Society, v. 18, n. 2, p. 104-111, 1963
- VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminant. 2. ed Ithaca: Cornell University. 476 p., 1994.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal Dairy Science, vol. 74, p. 3583-3597, 1991.
- VAN SOEST, P.J. & WINE, R.H. Determination of lignin and cellulose in acid-detergent fiber with permanganate. Journal Association Agricultural Chemistry, vol. 51, p. 780-785, 1968.
- WILSON, J. R.; ANDERSON, K.L., HACKER, J.B. 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, v. 40, p. 281 -291, 1989a.

- WILSON, J.R.; AKIN, D.E.; McLEOD, M.N.; et al. Particle size reduction of the leaves of a tropical and a temperate grass by cattle. II. Relation of anatomical structure to the process of leaf breakdown through chewing and digestion. Grass and Forage Science, v. 44, p. 65-75, 1989 c.
- WILSON, J.R.; BROWN, R.H.; WINDHAM W.R. Influence of leaf anatomy on the dry matter digestibility of C₃ e C₄, and C₃/C₄ intermediate types of Panicum species. Crop Science, v. 23, n. 1, p. 141-146, 1983.
- WILSON, J. R.; DEINUM, B.; ENGELS, F.M. Temperature effects on anatomy and digestibility of leaf and stem tropical and temperate forage species. Netherlands Journal of Agricultural Science, v. 39, p. 31 48, 1991.
- WILSON, J.R. & HACKER, J.B. Comparative digestibility and anatomy of some sympatric C₃ and C₄ arid zone grasses. Australian Journal of Agricultural Research, v. 38, p. 287 295, 1987.
- WILSON, J.R. & HATTERSLEY, P.W. Anatomical characteristics and digestibility of leaves of Panicum and other grass genera with C₃ and different types of C₄ photosynthetic pathway. Australian Journal of Agricultural Research, v. 40, p. 125 -136, 1989.
- WILSON, J.R. & HATTERSLEY, P.W. *In vitro* digestion of bundle sheath cells in rumen fluid and its relation to the suberized lamella and C₄ photosynthetic type in *Panicum* species, Grass and Forage Science, v. 38, p. 219 223, 1983.
- WILSON, J.R. Organization of forage plant in tissues. In: JUNG, H.G.; BUXTON, D.R.; HATFIELD, R.D. (Eds.) et al. Forage cell wall structure and digestibility, Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, p 1-32, 1993.
- WILSON, J.R. Structural and Anatomical traits of forage influencing their Nutritive Value for Ruminants. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO. Universidade Federal de Viçosa, MG, p.173-208, 1997.
- WILSON, J.R. Variation of leaf characteristics with level of insertion on a grass tiller. II. Anatomy. Australian Journal of Agricultural Research, v. 27, n. 3, p. 355 –364, 1976.

WILSON, J.R. & MINSON, D.J. Prospects for improving the digestibility and intake of tropical grasses. Tropical Grasslands, v. 14, n. 3, 1980.

APÊNDICES

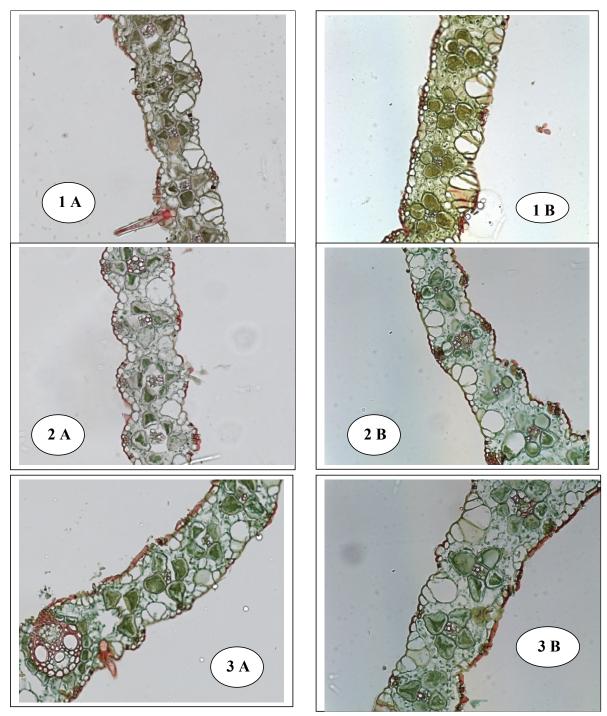


Figura 2 — Seção transversal de lâminas foliares de genótipos de seca (B) $: \exists$ - cv. Aruana; 2 - genótipo PM31; 3 - genótipo PM43

Panicum maximum no período das águas (A) e da

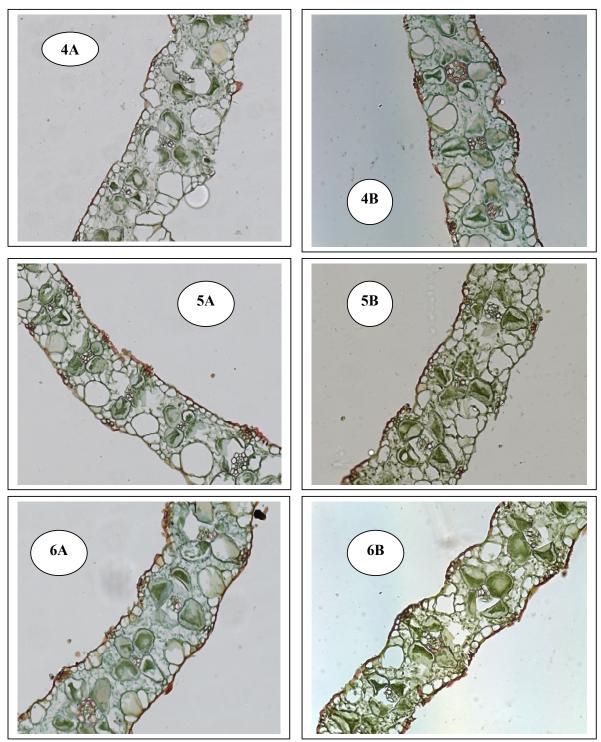


Figura 3. Seção transversal lâminas foliares de genótipos de *Panicum* no período das águas (A) e da seca (B): 4 — genótipo PM44; 5 - genótipo PM47; 6 -cv. Milênio

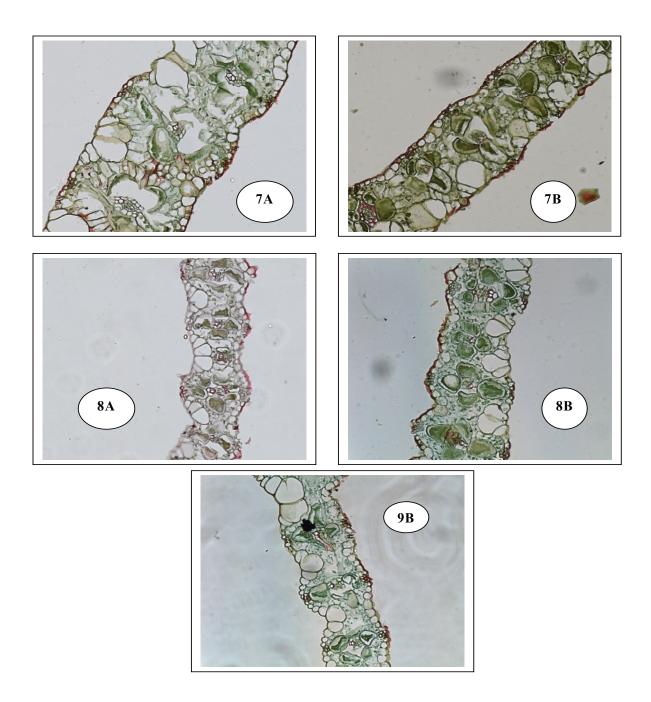


Figura 4. Seção transversal de lâminas foliares de genótipos de Panicum maximum no período das águas (A) e da seca (B): 7 – genótipos PM33; 8 – PM37; 9 – PM45