

**REVIGORAMENTO DE CULTIVARES DE
CAPIM-ELEFANTE (*Pennisetum purpureum*
Schum.) SUBMETIDAS À TERMOTERAPIA E
CULTURA DE TECIDOS**

MARINES MARLI GNIECH KARASAWA

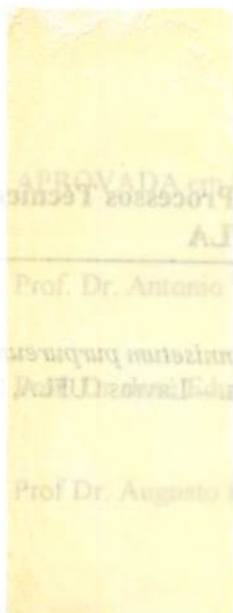
2001

51702

MFN-36484

MARINES MARLI GNECH KARASAWA

REVIGORAMENTO DE CULTIVARES DE CAPIM-ELEFANTE
(*Pennisetum purpureum* Schum.) SUBMETIDAS À TERMOTERAPIA E
CULTURA DE TECIDOS



Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Forragicultura e Pastagens, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. José Cardoso Pinto

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2001

A Deus,

Por estar sempre comigo;

Aos meus pais,

pelo apoio moral;

Ao meu esposo,

Pela dedicação, compreensão e companheirismo;

À minha filha,

pela cooperação;

DEDICO

"Devemos procurar sempre andar à frente do tempo, pois somente assim teremos chance de fazer novas descobertas. Caso contrário, estaremos apenas concretizando aquilo que já foi descoberto"

"Tudo o que fazemos, ao realizar a experimentação, é buscar a melhoria de vida, otimizando as técnicas ou bens de consumo das gerações subseqüentes"

BIOGRAFIA

MARINES MARLI GNIECH KARASAWA, filha de Albano Osvaldo Gniech e de Terezinha Marga Gniech, nasceu em Passo Fundo, Rio Grande do Sul, em 05 de junho de 1969.

Graduou-se em Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal de Pelotas, UFPel, em agosto de 1993.

Em maio de 1999, ingressou no Curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Forragicultura e Pastagens, sob a orientação do Prof. Dr. José Cardoso Pinto e co-orientação do Pesquisador Dr. Antônio Vander Pereira e Professor Dr. José Eduardo Brasil Pereira Pinto, concluindo-o em 02 de março de 2001.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	1
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 A espécie <i>Pennisetum purpureum</i> Schum. - capim-elefante.....	3
2.1.1 Origem, classificação botânica e descrição da planta	3
2.1.2 Importância, produção e valor nutritivo.....	4
2.1.3 Manejo, cultivo e manutenção.....	6
2.2 Limpeza Clonal	8
2.2.1 Termoterapia	9
2.2.2 Cultura de Tecidos.....	10
2.2.2.1 Micropropagação	12
2.2.2.2 Fatores que afetam a morfogênese e o ritmo da proliferação <i>in vitro</i>	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
CAPÍTULO 2.....	29
1 RESUMO.....	29
2 ABSTRACT.....	31
3 INTRODUÇÃO	32
4 MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1 Localização dos experimentos.....	36
4.2 Material Experimental	36
4.3 Termoterapia	36
4.4 Preparo e inoculação do material.....	37
4.5 Tratamentos, delineamento experimental e variáveis avaliadas.....	38
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1.1 Número de brotações	42

5.1.2 Número de raízes	46
5.1.3 Altura dos explantes.....	50
5.2 Avaliação das consistências do meio de cultura: 2ª Fase	57
5.2.1 Número de brotações	57
5.2.2 Número de raízes	58
5.2.3 Altura dos explantes.....	59
6 CONCLUSÕES.....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
CAPÍTULO 3.....	66
1 RESUMO.....	66
2 ABSTRACT.....	67
3 INTRODUÇÃO	68
4 MATERIAL E MÉTODOS	72
4.1 Localização do experimento.....	72
4.2 Material experimental	72
4.3 Termoterapia e Cultura de Tecidos.....	73
4.4 Aclimatização.....	73
4.5 Caracterização, coleta e preparo do solo.....	74
4.6 Delineamento experimental e tratamentos	74
4.7 Plantio e condução do experimento	76
4.8 Características avaliadas	77
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
5.1 Primeiro corte (realizado em 03/05/2000)	79
5.1.1 Altura e número de perfilhos e de folhas por perfilho	79
5.1.2 Produção de matéria seca	81
5.1.3 Relação folha/caule.....	83
5.1.4 Teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA).....	84

5.1.5 Teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S).....	87
5.2 Segundo corte (realizado em 03/07/2000)	92
5.2.1 Altura e número de perfilhos e de folhas por perfilho	92
5.2.2 Produção de matéria seca	95
5.2.3 Relação folha/caule.....	97
5.2.4 Teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA).....	98
5.2.5 Teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S).....	101
5.3 Terceiro corte (realizado em 01/09/2000).....	106
5.3.1 Altura e número de perfilhos e de folhas por perfilho	106
5.3.2 Produção de matéria seca	109
5.3.3 Relação folha/caule.....	111
5.3.4 Teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA).....	113
5.3.5 Teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S).....	116
6 CONCLUSÕES.....	121
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	123
ANEXOS	128

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

O sucesso da pecuária depende, dentre outros fatores, da disponibilidade de forragem em quantidade e qualidade para atender a demanda nutricional dos animais.

A adoção do capim-elefante decorre, principalmente, do seu grande potencial de produção de matéria seca (MS), aliado à boa qualidade (Tcacenco, 1988). Contudo, grande parte dos pecuaristas não consegue explorar todo o potencial produtivo da espécie. Há vários fatores que podem estar contribuindo para o sucesso ou insucesso no cultivo dessa espécie forrageira. Dentre eles, a baixa fertilidade e umidade do solo e o sistema de manejo adotado sobressaem como os mais importantes. Outro fator que pode contribuir para a redução na produtividade das áreas de capim-elefante, e que tem merecido pequena atenção, é a qualidade do propágulo (muda) utilizado. Essa planta forrageira é propagada predominantemente de forma assexuada. Sabe-se que nesses casos, embora a constituição genética seja mantida, o propágulo tem sua qualidade fitossanitária depauperada devido às sucessivas contaminações por patógenos, como fungos endofíticos, vírus e micoplasmas. Esse fato é constantemente relatado em espécies propagadas assexuadamente, como a cana-de-açúcar (*Saccharum spp*), a mandioca (*Manihot sculenta Crantz*), a batata (*Solanum tuberosum L.*), moranguinho (*Fragaria vesca L.*), entre outras. Vale salientar que no caso destas espécies, o número de vezes que um mesmo propágulo é reutilizado sem tratamento adequado é muito inferior ao que ocorre com o capim-elefante, cujas mudas são passadas entre os pecuaristas por inúmeras gerações.

As técnicas de termoterapia e cultura de tecidos têm apresentado resultados surpreendentes na restauração da produtividade de importantes

culturas, como cana-de-açúcar, mandioca, moranguinho e outras. Segundo Quak (1977), o tratamento com calor é especialmente eficaz contra vírus e micoplasmas que se encontram em frutíferas, cana-de-açúcar e mandioca. Portanto, a cultura de tecidos (associada à termoterapia que promove a remoção de patógenos) pode ser vista como uma ferramenta a ser utilizada para a limpeza clonal de variedades e para a indução de variabilidade passível de ser aproveitada no melhoramento de plantas, entre outros benefícios.

O sucesso do crescimento, proliferação e manutenção dos explantes isolados através da cultura de meristemas, *in vitro*, requer, além do conhecimento dos conceitos básicos de assepsia, cuidados com a planta matriz, elaboração de meios de cultura e excisão de explantes, um protocolo comercial que resulte de um trabalho minucioso e que deve, necessariamente, ser executado em etapas, estudando cada espécie ou cultivar em separado, pois, segundo Pinto e Pasqual (1990), as exigências na composição do meio de cultura variam de acordo com a espécie, cultivar e alguns casos particulares, como estado fisiológico, fenológico e nutricional da planta doadora do explante. A propagação dos explantes *in vitro* é influenciada pela inclusão de reguladores de crescimento, no meio de cultura, que possibilitem suprir as deficiências hormonais endógenas (Giles e Friesen, 1994).

Os objetivos deste trabalho foram estabelecer uma metodologia de multiplicação das cultivares Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro *in vitro*, e verificar o efeito do uso das técnicas da termoterapia e/ou cultura de tecidos sobre o revigoramento de cultivares de capim-elefante.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A espécie *Pennisetum purpureum* Schum. - capim-elefante

2.1.1 Origem, classificação botânica e descrição da planta

O capim-elefante é uma gramínea que ocorre naturalmente numa extensa área do continente africano, principalmente nos vales férteis com precipitação acima de 1000 mm. A África tropical é apontada como o centro de origem e diversidade desta espécie, sendo os territórios de Guiné, Moçambique, Angola, Zimbabwe e sul do Quênia relacionados como as principais áreas de variabilidade da espécie (Stapt e Hubbard, 1934; Brunken, 1977). Seu melhor desenvolvimento ocorre desde o nível do mar até 1500 m de altitude, com temperaturas próximas de 24°C (Rodrigues, Pedreira e Mattos, 1975) e com precipitação de 800 a 4000 mm. Em geral, adapta-se bem a vários tipos de solo com umidade suficiente, mas apresenta pouca tolerância a solos mal drenados (Jacques, 1994; Ocumpaugh e Sollenberger, 1995; Jacques, 1997). No Brasil, esta espécie foi introduzida em 1920, no Rio Grande do Sul, com mudas trazidas dos Estados Unidos (Carvalho, Martins e Saldanha, 1982; Mitidieri, 1983, Skerman e Riveros, 1992; Faria, 1994).

De acordo com a classificação botânica, o capim-elefante pertence à família *Graminae*, subfamília *Panicoideae*, tribo *Paniceae*, gênero *Pennisetum* e secção *Penicillaria* (Tcacenco e Botrel, 1994).

A espécie *Pennisetum purpureum* Schum. é perene, atingindo de 3 a 5 m de altura, com colmos eretos dispostos em touceiras abertas ou não, preenchidos de parênquima suculento. Apresenta rizomas curtos, folhas verde-escuras ou claras, pubescente ou não, com 30 a 110 cm de comprimento por 2 a 4 cm de

largura. A inflorescência é do tipo panícula sedosa e contraída, podendo ser solitária ou aparecendo em conjunto no mesmo colmo, cilíndrica, com até 15 cm de comprimento em média, com espiguetas solitárias ou agrupadas (2 a 5), envolvidas por um tufo de cerdas de coloração amarela ou purpúrea, sendo uma muito mais longa que as demais. As espiguetas são bifloras com a flor superior fértil e a inferior estéril. Essa espécie apresenta diversas variedades ou cultivares que, em geral, se diferenciam por caracteres agronômicos (Nascimento Júnior, 1975; Bogdan, 1977; Alcântara e Bufarah, 1986; Mitidieri, 1983; Skerman e Riveros, 1992; Diz, 1994; Ocumpaugh e Sollenberger, 1995).

2.1.2 Importância, produção e valor nutritivo

O baixo potencial produtivo da maioria das pastagens constitui uma das principais limitações para a produção animal; portanto, a alimentação equilibrada e de boa qualidade é a condição básica para o sucesso tanto da pecuária de corte como de leite (Silveira, 1994; Martins e Fonseca, 1999). Dentre os diversos componentes envolvidos na produção de leite, o item alimentação é responsável por aproximadamente 30% dos custos totais de produção. As pastagens, por serem fonte de alimento de baixo custo relativo para ruminantes, se utilizadas de forma adequada, podem contribuir decisivamente para reduzir o custo de produção do leite (Lima Júnior, 1993).

Segundo Tcacenco e Botrel (1997), a expressão máxima de uma planta forrageira depende da sua adaptação às condições do solo, clima e práticas de manejo a que é submetida. A boa adaptação do capim-elefante às condições edafoclimáticas brasileiras, aliadas ao seu alto potencial de produção, podem explicar a sua rápida expansão e popularidade entre os produtores (Pereira, 1994).

O capim-elefante é uma gramínea forrageira das mais importantes, sendo cultivada em quase todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo (Zúñiga, Sykes e Gomide, 1967; Grupta, 1975; Carvalho, 1985). Em virtude do elevado potencial produtivo e qualidade nutritiva, esta espécie apresenta alta capacidade de suporte de suas pastagens e tem sido apontada como a mais importante planta forrageira, capaz de proporcionar substancial melhoria na produção de leite a pasto (Tcacenco, 1988; Lima Júnior, 1993; Pereira, 1994; Vilela, 1994).

A atividade fotossintética do capim-elefante é uma das mais eficientes, pois as folhas individuais não se saturam mesmo com radiação solar máxima de 2000 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$. Esta característica, aliada ao tipo de comunidade com folhas estreitas e eretas que permitem uma maior penetração de luz através do perfil vegetal, possibilita uma melhor utilização das altas intensidades luminosas (Jacques, 1994; Jacques, 1997). Isto resulta em elevada capacidade de produção de área foliar e acúmulo de MS, podendo atingir, quando manejado intensivamente, cerca de 80 a 90 t/ha/ano de MS. Além desses aspectos, são citadas outras características favoráveis ao cultivo do capim-elefante, como a facilidade de multiplicação; resistência a pragas, doenças, seca e frio; boa adaptabilidade e bom valor nutritivo, podendo ser empregado como verde picado, na ensilagem, na fenação e para pastejo direto (Araújo, 1965; Faria, 1994; Faria, Silva e Corsi, 1996; Jacques, 1997; Faria, Silva e Corsi, 1998; Passos, 1999).

Durante muito tempo o capim-elefante foi empregado quase que exclusivamente para a formação de capineiras, sendo utilizado na forma de verde picado ou como silagem. Recentemente, com o desenvolvimento da tecnologia do pastejo rotativo, renovou-se o interesse pela sua utilização visando a intensificação da produção de leite a pasto e houve intensa procura por cultivares mais adaptadas à formação de pastagens (Pereira, 1999).

Resultados de pesquisa com o capim-elefante sob pastejo rotativo têm demonstrado ser possível obter produtividades acima de 15000 kg de leite/ha/ano (Deresz et al., 1994). Os maiores incrementos de produção de leite, por área, estão aproximadamente entre 7 e 20 semanas, sendo que o pico de produção se concentra entre 60 e 100 dias. Após 20 semanas, o aumento de produção de leite recebe apenas pequenos acréscimos, estabiliza e após inicia-se a decadência da produção (Corsi, 1990; Hillesheim, 1994). Um experimento conduzido em Porto Rico com o capim-elefante mostrou que para obter rendimentos ótimos e forragem de boa qualidade, os cortes devem ser realizados próximos do nível do solo e com intervalos de 60 dias (Vicente-Chandler et al., 1964, citado por Semple, 1974).

A concentração de PB das gramíneas e leguminosas diminui à medida que aumenta o grau de maturação da planta. Esta diminuição se deve a um aumento na proporção de caule, que é mais pobre em PB do que as folhas, e pela redução da PB das frações folha e caule pelo seu envelhecimento (Skerman e Riveros, 1992; Hillesheim, 1994). O teor médio de PB na MS do capim-elefante em experimentos conduzidos na ESALQ foi de 13,5%, conforme relatos de Corsi, Silva e Faria (1998). Segundo Próspero (1972) e Silveira (1973), citados por Hillesheim (1994), o teor de PB encontrado aos 45 dias de idade do capim-elefante foi de 14,95%; o teor de FDA foi de 30%, e os dos minerais Ca, P, K, Mg, e S são 0,14%; 0,21%; 0,10% e 0,15%, respectivamente.

2.1.3 Manejo, cultivo e manutenção

Os maiores problemas de manejo de pastagens são as flutuações anual e estacional da produção, resultantes do efeito de clima e outros (Vallentine, 1990). Nas regiões tropicais, em geral, além do efeito climático, existem aqueles relacionados com a fertilidade do solo para a formação das mais variadas

culturas, ligados principalmente ao baixo teor de fósforo (P) disponível e à acidez dos solos, além de outros nutrientes, como o nitrogênio (N), o potássio (K) e o enxofre (S), que têm sido identificados também como fatores limitantes para a formação de estandes adequados de plantas forrageiras (Monteiro, 1997), principalmente no caso do capim-elefante, que é bastante exigente em fertilidade (Alcântara e Bufarah, 1986). Outro problema que é enfrentado pela pecuária brasileira é a degradação das pastagens (Correia, 2000; Zimmer e Euclides, 2000) e o alto custo que pode representar a recuperação destas áreas faz com que elas raramente sejam transformadas em áreas produtivas (Correia, 1997).

O manejo das pastagens é um assunto complexo e está estreitamente relacionado com a fisiologia e estrutura das plantas forrageiras (Peterson, 1961). Exige dinamismo de trabalho, de iniciativas e de decisões, tomadas por equipe multidisciplinar com espírito crítico de análise de resultados de pesquisa. Sabe-se que as gramíneas tropicais têm potencial de produção de MS até duas vezes superior ao das espécies de origem temperada, mas como apresentam menor qualidade, limitam a produção animal (Corsi, Silva e Faria, 1998). Para prever a resposta da planta forrageira às mudanças estratégicas de manejo, deve-se construir modelos conceituais para ajudar a entender as interações complexas entre espécies ou cultivares forrageiras com o meio e avaliar a opção de manejo (Volenc e Nelson, 1995). A troca da espécie forrageira, por si só, não determina a melhoria na produtividade animal se outras práticas de manejo não forem adotadas para equilibrar o complexo solo-planta-animal. A simples substituição por espécies forrageiras "milagrosas", sem práticas adequadas de manejo, pode ser responsável pela rápida degradação das pastagens. Sistemas de produção apropriados devem considerar sistemas de manejo rotacionado, contínuo, diferido, irrigado, que resultem em maior ganho animal, cobertura do solo evitando erosão, aumento na deposição de matéria orgânica e ciclagem de nutrientes no solo (Zimmer e Euclides, 2000).

O capim-elefante é uma gramínea de alto rendimento de biomassa, que apresenta baixa produção de sementes, as quais são de baixa qualidade. Por essa razão, a sua propagação é feita através de mudas, empregando-se colmos com mais de 100 dias de idade, dispostos nos sulcos na posição pé com ponta. Recomenda-se cortar os colmos em pedaços com 2 a 3 gemas, no próprio sulco, semelhante ao que é realizado comumente em cana-de-açúcar (Alcântara e Bufarah, 1986; Ocumpaugh e Sollenberger, 1995; Evangelista e Rocha, 1997; Schank, 1999). Em decorrência de sua alta produção de forragem por unidade de área, com elevado valor nutritivo, a pastagem de capim-elefante possibilita elevadas taxas de lotação, desde que manejado corretamente. É possível conseguir taxas de lotação que variam de 4 a 6 vacas/ha, em sistemas exclusivos de pastejo, muito superior às gramíneas freqüentemente utilizadas. Forrageiras como capim-gordura, capim-jaraguá, braquiárias e outras que, em manejo tradicional, permitem taxas de lotação que variam de 0,5 a 1,5 vacas/ha, no período chuvoso (Martins e Fonseca, 1999). Em sistemas de produção com capim-elefante sob condições de irrigação têm-se conseguido produções diárias de leite superiores a 100 kg/há, com taxa de lotação acima de 7,5 vacas/ha/dia (Martins, 2000).

2.2 Limpeza Clonal

O capim-elefante é uma espécie forrageira que se propaga vegetativamente. Há indícios de que este método de propagação pode acarretar o declínio da produção desta forrageira, em virtude do acúmulo de patógenos sistêmicos instalados por ocasião dos cortes e preparação das mudas.

Os sintomas produzidos por vírus e micoplasmas nem sempre são visíveis, passando despercebidos por serem de difícil identificação, e também por serem de difícil combate por meio de produtos químicos (Pierik, 1990).

Assim, o acúmulo de patógenos como vírus e outros microorganismos pode, ao longo do tempo, afetar seriamente o rendimento e a qualidade de várias espécies vegetais, principalmente aquelas propagadas vegetativamente por meio de estacas, por longo período.

2.2.1 Termoterapia

Este tratamento consiste em submeter ininterruptamente, por duas ou mais semanas, as plantas infectadas, em crescimento ativo, a um ambiente com temperatura mais elevada, tolerada pelo vegetal (Quak, 1977; Boxus, Quorin e Laine, 1977).

Em condições de temperaturas elevadas, a multiplicação dos vírus é paralizada, enquanto as mitoses no tecido meristemático prosseguem normalmente, produzindo uma área de tecido livre de patógenos (Figura 1). Segundo Smith (1950), este é o método que tem proporcionado os melhores resultados na obtenção de tecido sadio.

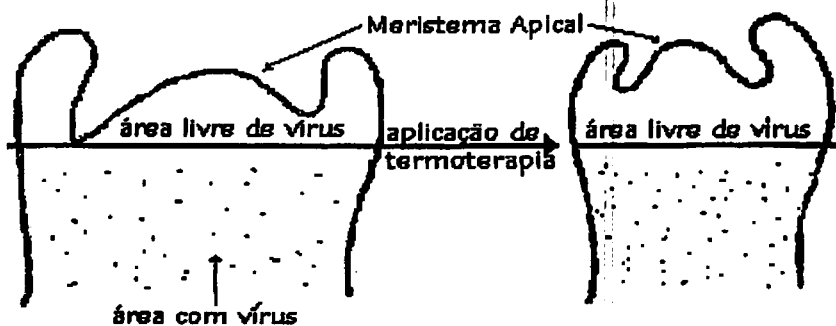


FIGURA 1. Esquema da multiplicação do vírus e crescimento do meristema, quando submetido a temperaturas elevadas.

Os procedimentos da termoterapia variam em tempo de exposição, temperatura e tipo de explantes. A combinação dessa técnica com o desenvolvimento da planta no escuro faz com que não haja a formação de clorofila; as folhas permanecem pequenas e rudimentares e os entrenós alongam-se acentuadamente. A taxa de replicação e/ou movimentação viral não acompanha o alongamento do ápice, o que possibilita maiores chances de estar livre de contaminantes (Torres, Teixeira e Pozzer, 1998).

O calor é especialmente eficaz contra vírus e micoplasmas que se encontram em frutíferas, cana-de-açúcar e mandioca (Quak, 1977). Esse autor afirma ainda que o tratamento de calor é eficaz somente contra vírus isométricos e micoplasmas.

Em mandioca, por exemplo, estacas foram expostas a temperaturas de 35 a 40°C, por 3 a 4 semanas antes da exição das pontas meristemáticas. Em inhame (*Dioscorea* sp.), a temperatura ótima foi por volta de 36°C, por duas semanas, e em *Citrus* sp efetuou-se um pré-tratamento para o crescimento do ápice meristemático, seguido de termoterapia a 45°C.

Esse tratamento é recomendado para o caso em que certos vírus não são eliminados pela cultura de meristema realizada isoladamente. O pré-tratamento com calor garante a eficiência da eliminação dos vírus (Oehl e Hughes, 1980).

2.2.2 Cultura de Tecidos

As técnicas de cultura de tecidos de plantas têm sido consideradas uma alternativa extremamente promissora para a agricultura. A atividade comercial, hoje, se concentra na limpeza clonal de espécies ornamentais, herbáceas e arbustivas. Além das razões econômicas, o maior sucesso tem sido encontrado na micropropagação de espécies herbáceas. Constatado o grande potencial de multiplicação, a facilidade de regeneração de raízes e o grande benefício que

representa a possibilidade de se limparem clones de doenças sistêmicas, na cultura de tecidos, concentram-se esforços na otimização de sistemas de micropropagação de espécies herbáceas, tornando-as, em pouco tempo, economicamente viáveis (Grattapaglia e Machado, 1990).

A cultura de tecidos vegetais *in vitro* é uma técnica que consiste em isolar qualquer parte da planta (explante) para cultivá-la em condições de laboratório (asepsia), em meio nutritivo artificial denominado “meio de cultura”(Roca e Mroginski, 1993, Giles e Friesen,1994; Pasqual, Hoffmann e Ramos, 1997). Estas técnicas se baseiam no princípio de que qualquer célula é totipotente, ou seja, contém toda a informação genética necessária para a regeneração de uma planta completa. O desenvolvimento de células individuais em complexos órgãos e tecidos multicelulares é um processo comum a todas as formas superiores de vida e constitui a chamada diferenciação. As vias de diferenciação envolvidas na maturação da planta são determinadas pela natureza constitutiva dos genes herdados e a sua expressão é resultante da interação do genótipo com o ambiente. Nas plantas, a maioria das divisões celulares ocorre em áreas concentradas, conhecidas como meristemas, e estes se encontram localizados em várias posições do organismo durante o seu desenvolvimento. O funcionamento dos meristemas pode ser ativado ou suprimido, de acordo com os padrões de diferenciação ditados por mecanismos de controle genéticos e/ou ambientais.

A cultura de meristemas (ápices caulinares) *in vitro* está sendo considerada um dos métodos mais rápidos e eficientes na obtenção de plantas saudáveis. As hipóteses que tentam explicar a ausência de partículas virais nos tecidos meristemáticos estão relacionadas com o rápido desenvolvimento do meristema, uma maior atividade da síntese protéica, sua desconexão vascular e a inativação das partículas virais durante o cultivo *in vitro* (Kassanis e Varma, 1967; Mathews, 1970; Mellor e Stace-Smith, 1977; Grattapaglia e Machado, 1990).

2.2.2.1 Micropropagação

Define-se micropropagação como qualquer procedimento asséptico que compreenda a manipulação de órgãos, tecidos ou células de plantas com a finalidade de produzir populações de plantas através do processo de propagação sexual ou propagação vegetativa (Krikorian, 1993). Utiliza-se a cultura de ápices caulinares na propagação *in vitro* para recuperar plantas livres de vírus, conservação e intercâmbio de germoplasma e transformação de plantas (Torres, Teixeira e Pozzer, 1998). Plantas propagadas vegetativamente são continuamente infectadas por doenças que passam de uma geração para a outra através dos propágulos. Quando existe uma virose latente, os sintomas como a queda de produção e a qualidade do propágulo são dificilmente detectados (Wang e Charles, 1991).

Micropropagação clonal consiste em isolar qualquer parte da planta (órgãos, tecidos ou células) e multiplicá-la em meios artificiais e estéreis. O indivíduo resultante desse processo terá a constituição genética idêntica à da planta que lhe deu origem (Krikorian, 1993).

Na cultura de meristemas, deve-se preferir explantes de ápices meristemáticos. O tamanho do isolado deve ser grande o suficiente para permitir o maior pegamento possível e a obtenção de plantas livres de patógenos. Por outro lado, na cultura nodal, a micropropagação é feita utilizando nós individualizados ou em conjunto e as plantas crescidas são individualizadas e enraizadas (George, 1993).

O processo de micropropagação é realizado em cinco fases:

Fase 1: Compreende a seleção e o tratamento da planta matriz. Este estágio consiste na seleção de uma planta típica (que represente a cultivar ou variedade) e livre de doenças. Aconselha-se fazer um tratamento preventivo na planta para diminuir o índice de contaminação do explante;

Fase 2: Consiste no estabelecimento de uma cultura asséptica, com um número satisfatório de sobreviventes crescendo *in vitro* sem contaminação;

Fase 3: Esta fase compreende a fase de multiplicação do explante obtido. Conforme o explante utilizado e a sua subsequente manipulação, a micropropagação pode ser conduzida por multiplicação através da proliferação de gemas axilares, multiplicação mediante a indução de gemas adventícias, por organogênese direta ou indireta (passando pela fase de calo), ou ainda por multiplicação via embriogênese. Para promover um rápido aumento no número de explantes, deve-se fazer uso das citocininas; estas irão promover a formação de tufos de parte aérea, os quais são subdivididos em conjuntos menores, ou cada parte aérea é isolada para a formação de novos explantes. As partes aéreas produzidas são em seguida enraizadas e transplantadas (Grattapaglia e Machado, 1998).

Zanette, Pailo e Moraes (1988), utilizando a técnica de micropropagação, através da cultura de meristemas, obtiveram 8 brotações de capim-elefante, em média, na concentração de 5 mg/l de BAP, após 25 a 35 dias em meio de multiplicação.

Fase 4: Esta fase consiste na preparação da planta para o crescimento em ambiente natural. A planta é individualizada e, se necessário, transferida para um meio de cultura de enraizamento e alongamento.

Fase 5: É quando se faz a transferência da planta para o ambiente natural, antes passando por um período de aclimatização ao ambiente natural. A aclimatização é o processo ao qual são submetidas as plantas propagadas por cultura de tecidos, com a finalidade de adaptá-las ao futuro ambiente, que é bastante diferente do seu ambiente de origem (Pasqual, Hoffmann e Ramos, 1997). Esta fase é imprescindível, pois as plantas que crescem *in vitro* não possuem a camada de cera que protege as folhas contra a perda de água. Já as plantas que passam por esta fase passam por uma adaptação gradual, ocorrendo a formação

da camada cerosa nas folhas, impedindo a ocorrência do estresse por desidratação.

A aclimatização é uma fase intermediária de adaptação entre o laboratório e o campo. Zanette, Pailo e Moraes (1988) obtiveram bom índice de sobrevivência no período de aclimatização, após o transplante, mesmo quando as plantas de capim-elefante não possuíam raízes.

2.2.2.2 Fatores que afetam a morfogênese e o ritmo da proliferação *in vitro*

- **O estado fisiológico da planta doadora**

O estado fisiológico da planta doadora apresenta influência direta sobre a condição do explante. Portanto, ao escolher a planta doadora, deve-se verificar a sua condição nutricional, fitossanitária e vegetativa. Em espécies arbóreas, o potencial de regeneração da cultura de tecidos diminui a cada ano com a maturação da planta, mesmo nos casos em que certas características juvenis são mantidas. Já em plantas herbáceas, os tecidos removidos de regiões produzidas mais recentemente são mais regenerativos do que os provenientes de regiões mais velhas.

A capacidade dos tecidos vegetais cultivados *in vitro* formarem gemas, raízes ou embriões somáticos tem despertado a atenção de pesquisadores devido à sua grande implicação prática e à sua importância para o avanço do conhecimento de várias áreas. Os pesquisadores da área vegetal reconhecem a totipotência das células das plantas, ou seja, as células são autônomas e têm potencialidade de regenerar plantas, desde que submetidas a tratamentos adequados (Kerbaudy, 1998).

- **A composição e a consistência do meio de cultura**

Para cultivo *in vitro*, o meio de cultura é fundamental na regeneração da planta; portanto, é necessário que o meio de cultura contenha macro e micronutrientes, vitaminas e, principalmente, reguladores de crescimento, que são responsáveis pela diferenciação e crescimento (Murashige e Skoog, 1962). Para tornar o meio líquido em semi-sólido, favorecendo o desenvolvimento do meristema, pode-se utilizar o ágar. O pH do meio de cultura deve ser ajustado para $5,7 \pm 0,1$ (Driessen, 1983). Todos os nutrientes do meio de cultura devem estar em concentrações ótimas para assegurar o crescimento dos explantes. As exigências na composição do meio de cultura variam com a espécie, cultivar e situações particulares (Pinto e Pasqual, 1990).

Várias formulações são utilizadas na cultura *in vitro*, diferindo, basicamente, nas concentrações dos sais utilizados, mas o meio de cultura mais utilizado na cultura de tecidos é o desenvolvido por Murashige e Skoog (1962).

A propagação é influenciada pela inclusão de reguladores de crescimento no meio de cultura (Giles e Friesen, 1994), os quais proporcionam um melhor desenvolvimento dos explantes, pois têm a função de suprir deficiências hormonais endógenas dos explantes. Os reguladores de crescimento são substâncias sintéticas que, quando aplicadas às plantas, promovem efeitos semelhantes aos produzidos pelos fitohormônios. As auxinas agem promovendo alongamento celular e crescimento em extensão de caules e raízes. Esta classe de reguladores de crescimento vegetal está quimicamente ou funcionalmente relacionada ao fito-hormônio natural AIA (ácido indolacético). As citocininas são substâncias reguladoras de crescimento vegetal, quimicamente relacionadas ao fitohormônio natural zeatina, que causam divisão celular nas plantas e promovem o crescimento de gemas laterais através da quebra da dominância

apical (Felippe, 1979; Válio, 1979; Metivier, 1979; Taiz e Zieger, 1991; Arteca, 1996; Pasqual, Hoffmann e Ramos, 1997).

A consistência do meio de cultura pode influenciar a taxa de crescimento e a proliferação da cultura (George, 1993). O ágar possui em sua composição alguns produtos tóxicos e pode prejudicar principalmente o sistema radicular. Quanto ao meio de cultura líquido, deve-se atentar para o fato de que a concentração de macro e micronutrientes pode ser inferior, em termos de necessidade da planta, com relação a um meio de cultura sólido, devido ao fato de todos os nutrientes estarem prontamente disponíveis.

- **As condições ambientais**

As condições ambientais de luz, temperatura e gases podem causar efeitos significativos sobre os materiais mantidos em sistema de micropropagação. Células, tecidos e órgãos cultivados em meios contendo a sacarose como fonte de energia podem ser menos dependentes da fotossíntese. Plantas cultivadas na faixa de comprimento de onda de 660 nm normalmente produzem brotações, enquanto, na faixa de 740 nm, produzem raízes. A intensidade da luz requerida, na maioria dos casos, é de cerca de 2000 lux. O fotoperíodo deve ser ajustado para 16 horas de luz e a temperatura para $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (Murashige, 1974; Teixeira e Torres, 1998).

A constituição da fase gasosa no interior do frasco contendo a cultura afeta o seu desempenho, pois existem gases que são metabolicamente ativos e que podem, possivelmente, ter efeitos sobre a morfogênese, como o etileno, oxigênio, o dióxido de carbono e outros compostos como etanol e acetaldeído.

- **Os genótipos propagados**

Diferentes genótipos costumam variar o comportamento *in vitro* com relação às condições do meio de cultura e à proliferação do explante. Desta forma, pode haver a necessidade de ajustar o meio para um genótipo específico.

- **Os problemas técnicos**

Fontes de Infecção

A princípio, existem quatro fontes de infecção: a planta, o meio de cultura, o ar e o operador. A mais importante fonte de contaminação é a planta, portanto, o material deve ser bem esterilizado antes do seu isolamento (Pierik, 1990). Cuidados com a planta doadora, como, por exemplo, fazer algumas podas, adubações (se for o caso), pulverizações com fungicidas, além de proteger as brotações contra insetos transmissores de doença, também ajudam a diminuir a contaminação inicial do explante. A escolha de um explante adequado é o primeiro passo para o estabelecimento dos cultivos, dependendo do objetivo estabelecido, como, por exemplo a produção de calo, e da espécie vegetal a ser utilizada (Roca e Mroginski, 1993). Plantas vigorosas, bem nutridas e sem estresse produzem explantes mais uniformes (Pasqual, Hoffmann e Ramos, 1997).

O tamanho do explante também influi e a probabilidade de se isolar tecidos livres de vírus e outros agentes causadores de doença é inversamente proporcional ao tamanho do explante (Murashige, 1977, citado por Torres, Teixeira e Pozzer, 1998). Em geral, é recomendado o isolamento de explantes com dois primórdios foliares e porção subjacente do caule, o que corresponde a um tamanho entre 0,1 e 0,3 mm (Torres, Teixeira e Pozzer, 1998).

Problemas no Desenvolvimento do Explante

Os principais problemas observados na fase de desenvolvimento dos explantes são a hiperidricidade ou vitrificação e o declínio do vigor das brotações.

A hiperidricidade é um fenômeno bastante comum na cultura de tecidos vegetais e pode causar danos tanto na taxa de crescimento e multiplicação de explantes, como também dificultar ou inviabilizar a aclimação das plântulas. Como fatores que influenciam a hiperidricidade, citam-se os fatores ambientais, a baixa transpiração, o potencial hídrico do meio (em função da concentração de ágar), a composição de macro e micronutrientes (principalmente o íon amônio) e os reguladores de crescimento (balanço auxina/citocinina).

Para prevenir a hiperidricidade, deve-se reduzir a umidade do recipiente, aumentar a concentração do agente solidificante no meio de cultura ou aumentar a concentração de sacarose, utilizar meio de cultura de duas fases (sólido e líquido), usar suporte poroso em meio líquido, diminuir a concentração de amônio no meio, ajustar o pH, adicionar um ou mais ácidos orgânicos (como citrato, succinato e malato para regular a assimilação do amônio), diminuir a concentração de micronutrientes e substituir a sacarose por frutose, galactose ou glutatona reduzida no meio.

O declínio do vigor das brotações em algumas espécies pode ocorrer após algum período de tempo em cultura de tecidos. Os principais sintomas são diminuição e até paralização do crescimento e proliferação das brotações. Vários fatores podem estar associados a esse problema, que costuma ser evitado por subcultivos sucessivos.

Segundo Vidigal, Passos e Silva (1998), o capim-elefante tem apresentado perda gradual de vigor ao longo de sucessivos subcultivos,

limitação que torna necessária a reintrodução de acessos na coleção e compromete a eficiência dos bancos de germoplasma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCÂNTARA, P.B.; BUFARAH, G. **Plantas forrageiras: gramíneas e leguminosas** 2.ed São Paulo: Nobel, 1986. 150 p.
- ARAÚJO, A.A. de. **Melhoramento de pastagens**. Porto Alegre: Sulina, 1965. 148 p.
- ARTECA, R.N. **Plant growth substances: principles and applications**. New York: Chapman & Hall. 1996. 332p.
- BOGDAN, A.V. **Tropical pastures and fodder plants**. New York: Longman. 1977. 475p.
- BOXUS, P.H.; QUORIN, M.; LAINE, J.M. Large scale propagation of strawberry. In: **Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture**. Berlin: Springer Verlag, 1977. p.130-143.
- BRUNKEN, J.N. A systematic study of *Pennisetum* Sect. *Pennisetum* (Gramineae). **American Journal of Botany**, New York, v.64, n.2, p.161-176, Feb. 1977.
- CARVALHO, L. de A. *Pennisetum purpureum* Schumacher: Revisão. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1985. 86p. (Boletim de Pesquisa, 10).
- CARVALHO, L. de A.; MARTINS, M.S.; SALDANHA, E.M. **Bibliografia de *Pennisetum purpureum*, Schum.** Brasília: EMBRAPA, 1982. 380p.
- CORRÊA, L. de A. Pastejo rotacionado para produção de bovinos de corte. In: EVANGELISTA, A.R.; BERNARDES, T.F.; SALES, E.C.J. de. **SIMPÓSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS: TEMAS EM EVIDÊNCIA**. Anais... Lavras: UFLA, 2000. p.149-178.
- CORREIA, M.E.F. Fauna de solo, microorganismos e matéria orgânica como componentes da qualidade do solo em sistema de pastejo. In: PEIXOTO, A.M.; MOURA, J.C. de; FARIA, V.P. de. **SIMPÓSIO SOBRE MANEJO**

- DA PASTAGEM, 14, Piracicaba, 1997. Anais... Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 39-54.
- CORSI, M. Produção e qualidade de forragens tropicais: Sociedade Brasileira de Zootecnia, Piracicaba: FEALQ, 1990. p. 69-85.
- CORSI, M.; SILVA, S.C. da; FARIA, V.P. de. Princípios de manejo do capim-elefante sob pastejo. Informe Agropecuário. Belo Horizonte, v.19, n.192, p.36-43, 1998.
- DERESZ, F.; CÓSER, A.C.; MARTINS, C.E.; BOTREL, M.A.; AROEIRA, L.J.M.; MALDONADO, V.H.; MATOS, L.L. Utilização do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) na produção de leite. In.: Simpósio Brasileiro de Forrageiras e Pastagem. Campinas: CBNA, 1994. p.183-199.
- DIZ, D.A. Breeding procedures and seed production management in pearl millet x elephant grass hexaploid hybrids. Gainesville: University of Florida, 1994. 118p. Tese de Doutorado.
- DRIESSEN, A.C. Estágio de capacitação desenvolvido no laboratório de cultura de tecidos da Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Estadual Cascata - UEPAE/CASCATA. Pelotas: EMPASC, 1983. 15 p. (mimeografado).
- EVANGELISTA, A.R.; ROCHA, G.P. Forragicultura. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 246p.
- FARIA, V.P. de. Evolução do uso do capim-elefante: uma visão histórica. In: PEIXOTO, A.M.; MOURA, J.C.; Faria, V.P. de. SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 10, Piracicaba, 1994. Anais.... Piracicaba: FEALQ, 1994. p.19-45.
- FARIA, V.P.; SILVA, S.C.; CORSI, M. Potencial e perspectivas do pastejo de capim-elefante. Informe Agropecuário. Belo Horizonte, v.19, n.192, p.5-13, 1998.
- FARIA, V. P. de; SILVA, S. C. e CORSI, M. Potencial e perspectivas do pastejo em capim-elefante. In: PEIXOTO, A.M.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P. Pastagens de capim-elefante. Piracicaba: FEALQ, 1996. p.7-27.

- FELIPPE, G.M. Desenvolvimento. In: FERRI, M.G. *Fisiologia vegetal* 2. 2 ed. São Paulo: EPU, 1979, p. 1-38.
- GEORGE, E.F. *Plant propagation by tissue culture*. England:exegetics, 1993. 574p.
- GILES, K.L.; FRIESEN, R.D. Micropropagation. In: SHARGOOL, P.D.; NGO, T.T. *Biotechnological applications of plant cultures*. CRC Press: Flórida.1994. p.111-128.
- GRATTAPAGLIA, D; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. *Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas*. Brasília, ABCTP/EMBRAPA – CNPH, 1990. p.99-110.
- GRATTAPAGLIA, D; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. *Cultura de tecidos e transformação de genética de plantas*. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, 1998.v.1, p.183-260.
- GRUPTA, V.P. Inter and intraespecific hybridization in forage plants-genus *Pennisetum*. New Delhi. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, v.34, n.2, p.162-172, Apr/Jun. 1975.
- HILLESHEIM, A. Manejo do capim-elefante: corte. In: PEIXOTO, A.M.; MOURA, J.C. de; FARIA, V.P. de. SIMPOSIO DE MANEJO DE PASTAGEM, 10. Anais... Piracicaba: FEALQ, 1994.
- JACQUES, A.V.A. Caracteres morfofisiológicos e suas implicações com o manejo. In: CARVALHO, M.M.; ALVIM, M.J.; XAVIER, D.F.; CARVALHO, L.D.A. *Capim-elefante: produção e utilização*. Coronel Pacheco, EMBRAPA/CNPGL, 1994. p.31-47.
- JACQUES, A.V.A. Caracteres morfofisiológicos e suas implicações com o manejo. In: CARVALHO, M.M.; ALVIM, M.J.; XAVIER, D.F.; CARVALHO, L.D.A. *Capim-elefante: produção e utilização*. Brasília-SPI/ Juiz de Fora: EMBRAPA/CNPGL, 1997. 2ed., p.31-47.

- KASSANIS, B.; VARMA, A. The production of virus-free clones of some british potato varieties. *Annals Applied Biology*, London, v.59, n. 3, p.447-500, June 1967.
- KERBAUY, G.B. Competência e determinação celular em cultura de células e tecidos de plantas. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. BRASÍLIA; EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. v.2, p.519-531.
- KRIKORIAN, A.D. Propagación clonal in vitro. In: Roca, W.M.; Mroginski, L.A. *Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos e aplicações*. Cali: CIAT. 1993. P.95-126.
- LIMA JÚNIOR, A.C.S. Perspectivas do uso da pastagem do capim-elefante. In: PEIXOTO, A.M.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P. *SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM*, 10, Piracicaba, 1992. *Anais....* Piracicaba: FEALQ, 1993. p.295-305.
- MARTINS, C.E. Irrigação: uma estratégia de intensificação da produção de leite a pasto. In: EVANGELISTA, A.R.; BERNARDES, T.F.; SALES, E.C.J. de. *SIMPÓSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS: TEMAS EM EVIDÊNCIA*. Anais... Lavras: UFLA, 2000. p.311-356.
- MARTINS, C.E.; FONSECA, D.M. da. Manejo do solo e adubação da pastagem de capim-elefante. In: PASSOS, L.P.; CARVALHO, L.A.; MARTINS, C.E.; BRESSAN, M.; PEREIRA, A.V. *Biologia e manejo do capim-elefante*. Juiz de Fora: EMBRAPA/CNPGL, 1999. p.83-118.
- MATTHEWS, R.E.F. *Plant virology*. New York: Academic Press, 1970. 778 p.
- MELLOR, F.C.; STACE-SMITH, R. Virus-free potatoes by tissue culture. In: REINERT, J.; BAJAJ, Y.P.S. *Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture*. Berlin: Springer-Verlag, 1977. p. 616-646.
- METIVIER, J.R. Citocininas. In: FERRI, M.G. *Fisiologia Vegetal 2*. São Paulo: EPU, 1979, 2 ed., p. 93-128.

MITIDIERI, J. Manual de gramíneas e leguminosas para pastos tropicais.
São Paulo: Nobel, 1983. 198p.

MONTEIRO, F.A. Adubação de estabelecimento e manutenção em capim-elefante. In: CARVALHO, M.M.; ALVIM, M.J.; XAVIER, D.F.; CARVALHO, L.D.A. **Capim-elefante: produção e utilização.** Brasília-SPI/Juíz de Fora: EMBRAPA/CNPGL, 1997. 2ed., p.47-78.

MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue culture. Annual Review of Plant Physiology. Palo Alto, v.25, p.135-166, 1974.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, Copenhagen, v.15, n.3, p.473-497, Mar 1962.

NASCIMENTO JÚNIOR, D. Informações sobre algumas plantas forrageiras do Brasil. Viçosa: Imprensa Universitária, 1975. 73p.

OCUMPAUGH, W.R.; SOLLENBERGER, L.E. Other grasses for the humid south. In: BARNES, R.F.; MILLER, D.A.; NELSON, C.J. **Forages.** Iowa: Iowa State University Press, 1995. 5ed., v. I, p.441-450.

OEHL, H.; HUGHES, H.M. The field performance of a clone of Cambridge prizewinner strawberry, free from latent virus A by meristem culture. Journal of Horticultural Science. London, v.55, n.1, p.79-82, Jan. 1980.

PASQUAL, M.; HOFFMANN, A.; RAMOS, J.D. Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações - introdução: fundamentos básicos. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 159p.

PASSOS, L.P. Fisiologia do capim-elefante: uma revisão analítica. In: PASSOS, L.P.; CARVALHO, L.A.; MARTINS, C.E.; BRESSAN, M.; PEREIRA, A.V. **Biologia e manejo do capim-elefante.** Juiz de Fora: EMBRAPA/CNPGL, 1999. p.29-62.

PEREIRA, A.V. Escolha de variedades de capim-elefante. In: PEIXOTO, A.M.; MOURA, J.C. de; FARIA, V.P. de. **SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 10,** Piracicaba, 1994. Anais... Piracicaba: FEALQ, p.47-62.

- PEREIRA, A.V. Germoplasma e diversidade genética do capim-elefante. In: SIMPÓSIO SOBRE CAPIM-ELEFANTE, 2, Juiz de Fora, 1994. Anais... Coronel Pacheco: EMBRAPA/CNPGL, 1994. p.1-11.
- PEREIRA, A.V. Germoplasma e diversidade genética do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. In: PASSOS, L.P.; CARVALHO, L.A.; MARTINS, C.E.; BRESSAN, M.; PEREIRA, A.V. **Biologia e manejo do capim-elefante**. Juiz de Fora: EMBRAPA/CNPGL, 1999. p. 1-15.
- PETERSON, R.A. Fisiologia de plantas forrageiras. In: I.I.C.A. **Fundamentos de manejo de pastagens**. 1961, p. 23-30.
- PIERIK, R.L.M. **Cultivo in vitro de las plantas superiores**. Madrid: Mundi-Prensa, 1990. 326p.
- PINTO, J.E.B.P.; PASQUAL, M. **Introdução a cultura de tecidos**. Lavras: ESAL, 1990. 73p. (apostila)
- QUAK, F. Meristem culture and virus-free plants. In: REINERT, J.; BAJAJ, Y.P.S. **Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture**. Berlin: Springer Verlag, 1977. p.130-140.
- ROCA, W.M.; MROGINSKI, L.A. Establecimiento de un laboratorio para el cultivo de tejidos vegetales. In: Roca, W.M.; Mroginski, L.A. **Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos e aplicações**. Cali: CIAT. 1993. p. 1-18.
- RODRIGUES, L.R.A.; PEDREIRA, J.V.S.; MATTOS, H.B. Adaptação ecológica de algumas plantas forrageiras. **Zootecnia**, Nova Odessa, v.13, n.4, p.201-218, out/dez 1975
- SCHANK, S.C. Propagação vegetativa e sexual do capim-elefante. In: In: PASSOS, L.P.; CARVALHO, L.A.; MARTINS, C.E.; BRESSAN, M.; PEREIRA, A.V. **Biologia e Manejo do capim-elefante**. Juiz de Fora: EMBRAPA/CNPGL, 1999. p.63-82.
- SEMPLE, A.T. **Avances en pasturas cultivadas y naturales**. Buenos Aires: Hemisfério Sur, 1974. 544 p.

- SILVEIRA, M.A. Alternativa para uso racional do capim-elefante na dieta de bovinos. In: PEIXOTO, A.M.; MOURA, J.C. de; FARIA, V.P. de. SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 10, Anais... Piracicaba: FEALQ, 1994.
- SMITH, K.M. *Vírus de los vegetales*. Buenos Aires: Acme Agency, 1950. 113p.
- STAPF, O.; HUBBARD, C.E. *Pennisetum*. In: PRAIN, D. *Flora of tropical Africa*. v.9, 1934. p.954-1070.
- SKERMAN, P.J.; RIVEROS, F. *Gramineas tropicales*. Italia: FAO, Biblioteca David Lubin, 1992. 849p.
- TAIZ, L.; ZIEGER, E. *Plant physiology*. California: Benjamin/cummings. 1991. p. 398-425, 452-472.
- TCACENCO, F.A. Seleção de caracteres para a classificação de capim-elefante. *Pasturas Tropicales*, Cali, v.10, n.1, p.14-19, Mar 1988.
- TCACENCO, F.A.; BOTREL, M.A. Identificação e avaliação de acessos e cultivares de capim-elefante. In: CARVALHO, M.M.; ALVIM, M.J.; XAVIER, D.F.; CARVALHO, L.A.. *Capim-elefante: produção e utilização*. Coronel Pacheco, EMBRAPA/CNPGL, 1994. p.1-30.
- TCACENCO, F.A.; BOTREL, M. de A. Identificação e avaliação de acessos de cultivares de capim-elefante. In: CARVALHO, M.M.; ALVIM, M.J.; XAVIER, D.F.; CARVALHO, L.A.. *Capim-elefante: produção e utilização*. Coronel Pacheco, EMBRAPA/CNPGL, 1997. p.1-30.
- TEIXEIRA, S.L.; TORRES, A.C. Organização do Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. *Cultura de tecidos e transformação de genética de plantas*. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. v.1, p. 71-86.
- TORRES, A.C.; TEIXEIRA, S.L.; POZZER, L. Cultura de ápices caulinares e recuperação de plantas livres de vírus. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.;

- BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação de genética de plantas.** Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, 1998.v. 1, p. 133-146.
- VÁLIO, I.F.M. Auxinas. In: FERRI, M.G. **Fisiologia Vegetal 2.** São Paulo: EPU, 1979, 2 ed., p. 39-72.
- VALLENTINE, J.F. **Grazing management.** California: Academic Press, 1990. 533p.
- VIDIGAL, M.C.; PASSOS, L.P.; SILVA, J.L.O. Conservação in vitro do germoplasma de capim-elefante por meio de micropropagação de meristemas axilares. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.28, n.3, p.379-385, jul/set 1998.
- VILELA, D. Utilização do capim-elefante na forma de forragem conservada. In: CARVALHO, M.M; ALVIM, M.J.; XAVIER, D.F.; CARVALHO, L.A. **Capim-elefante: produção e utilização.** Coronel Pacheco: EMBRAPA/CNPGL, 1994. p.117-164.
- VOLENEC, J.J.; NELSON, C.J. Forage crop management: application of emerging technologies. In: BARNES, R.F.; MILLER, D.A.; NELSON, J.C. **forages.** Iowa: Iowa State University Press, 1995. 5ed., v. II, p.3-20.
- WANG, P.J.; CHARLES, A. Micropropagation through meristem culture. In: BAJAJ, Y.P.S. **Biotechnology in agriculture and forestry 17: high-tech and micropropagation I.** Berlin:Springer-Verlag, 1991. p.32-52.
- ZANETE, F.; PAILO, W.N.; MORAES, A. Obtenção de mudas de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. var. napier) por cultura de meristemas. **Revista do Setor de Ciências Agrárias.** Curitiba, v.10, n. 1-2, p.175-177, 1988.
- ZIMMER, H.A.; EUCLIDES, V.P.B. Importância das pastagens para o futuro da pecuária de corte no Brasil. In: EVANGELISTA, A.R.; BERNARDES, T.F.; SALES, E.C.J. de. **SIMPÓSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS: TEMAS EM EVIDÊNCIA.** Anais... Lavras: UFLA, 2000. p.1-49.

ZÚÑIGA, M.C.P.; SYKES, J.; GOMIDE, J.A. Competição de treze gramíneas para corte, com e sem adubação, em Viçosa, Minas Gerais. Revista Ceres, Viçosa, v.13, n.77, p.325-339, jul/ago 1967.

CAPÍTULO 2

Concentrações de benzilaminopurina e substratos para a obtenção de plântulas de capim-elefante

1 RESUMO

KARASAWA, Marines Marli Gniech. Concentrações de benzilaminopurina e substratos para a obtenção de plântulas de capim-elefante. LAVRAS: UFLA, 2001. 135p. (Dissertação - Mestrado em Zootecnia)*

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Plantas Mediciniais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras - UFLA, Minas Gerais. Foram utilizados explantes secundários, obtidos por cultura de meristemas, individualizados com 30 mm de comprimento e transferidos para tubos de ensaio de 25 x 150 mm, contendo 15 ml de meio básico MS (Murashige e Skoog, 1962), suplementado com as vitaminas WPM (Loyd e McCown, 1980), 3% de sacarose e 0,00; 4,44; 8,88; 13,32 e 17,76 μM de BAP (na 1ª fase) e 4,44 e 8,88 μM de BAP (na 2ª fase), para as cultivares Mineiro e Pioneiro, respectivamente, suplementado ou não com 0,7% de ágar (na 1ª fase) e suplementado ou não com 0,7% de ágar, 0,2% de phytigel (na 2ª fase), pH 5,7 \pm 0,1. Os tubos foram tampados e autoclavados por 20 minutos a 120°C. Nas duas fases foram avaliados, aos 49 dias de idade, o número total de brotações, número total de raízes e a altura dos explantes. O maior número de brotos/explante secundário foi conseguido, na 1ª fase, nas concentrações de 4,44 e 17,76; 17,76 e 17,76 e 8,88 e 4,44 μM de BAP, para os meios sólido e líquido, das cultivares Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro, respectivamente. O maior número de raízes do capim-elefante foi obtido, na 1ª fase, na concentração de 4,44 μM de BAP, respectivamente nos meios de cultura sólido e líquido das cultivares estudadas, e as alturas dos explantes foram maiores nos meios de cultura sólido e líquido, isento de fitorregulador. Na 2ª fase, o maior número de

* Comitê Orientador: José Cardoso Pinto - UFLA (Orientador), Antônio Vander Pereira - EMBRAPA/CNPGL, José Eduardo Brasil Pereira Pinto - UFLA.

brotações ocorreu no meio de cultura suplementado com 0,7% de ágar e 0,2% de phytigel. Para a produção de raízes, a melhor consistência de meio de cultura foi o suplementado com 0,2% de phytigel e o crescimento do explante em altura foi bom em todas as consistências de meio de cultura (líquido, suplementado com ágar ou com phytigel), ao se utilizarem as concentrações de 4,44 e 8,88 μM de BAP, respectivamente, para as cultivares Mineiro e Pioneiro.

2 ABSTRACT

KARASAWA, Marins Marli Gniech. Concentration of benzylaminopurine and substrate for elephantgrass plantlets proliferation. LAVRAS: UFLA, 2001. 135p. (Dissertation - Master Program in Animal Science).*

The present work was conducted in the Plant Tissue Culture and Medicinal Plant laboratory of the Agriculture Department at Universidade Federal de Lavras – UFLA, Minas Gerais. Secondary explants, obtained from individualized meristem culture 30 mm long and transferred to test tubes of 25 x 150 mm, containing 15 ml of MS (Murashige and Skoog, 1962) basic medium supplemented with the vitamins WPM (Lloyd and McCown, 1980), 3% sucrose and 0.00; 4.44; 8.88; 13.32 and 17.76 μM of BAP (in the first phase) for the cultivars Mineiro, Taiwan A-147 and Pioneiro, respectively; and with 4.44 and 8.88 μM of BAP (in the second phase) for the cultivars Mineiro and Pioneiro, respectively. Supplemented with either 0,0 or 0.7% of agar (in the first phase) and with 0.0%, 0.7% of agar or 0.2% of phytigel (in the second phase), pH 5.7 ± 0.1 . The tubes were screwed and autoclaved for 20 minutes at 120°C . In the two phases, the total number of shoots, total number of roots and the height of explants at 49 days of age were evaluated. The highest number of shoots was obtained, in the first phase, at the concentrations of 4.44 and 17.76; 17.76 and 8.88 and 4.44 μM of BAP for the solid and liquid media of the cultivars Mineiro, Taiwan A-147 and Pioneiro, respectively. The highest number of roots of elephantgrass was obtained, in the first phase, at the concentration of 4.44 μM of BAP, respectively in the solid and liquid culture media of the investigated cultivars and the best plantlet height was obtained with medium, solid or liquid, without growth regulator. In the second phase, the best propagule proliferation occurred in medium supplemented with 0.7% of agar and 0.2% of phytigel. For root production the best consistency of culture medium was the supplement with 0.2% of phytigel and the growth of the plantlet, in height, was good for all the culture medium consistency (liquid and with either agar or phytigel) on utilizing the concentrations of 4.44 and 8.88 μM of BAP, respectively for the cultivars Mineiro and Pioneiro

* Guidance Committee: José Cardoso Pinto - UFLA (Major Professor), Antônio Vander Pereira - EMBRAPA/CNPGL, José Eduardo Brasil Pereira Pinto - UFLA.

3 INTRODUÇÃO

A micropropagação, através do cultivo de meristemas *in vitro*, tem sido muito utilizada na cultura de tecidos com o objetivo de livrar plantas, de propagação assexuada, de sucessivas contaminações causadas por patógenos como vírus, fungos endofíticos, bactérias e micoplasmas.

Para que o crescimento, a proliferação e a manutenção dos explantes *in vitro* sejam bem sucedidas torna-se necessário o estabelecimento de um protocolo comercial, através do qual serão definidas as quantidades adequadas dos elementos necessários, no meio de cultura, para cada espécie ou cultivar em separado. O meio de cultura deve suprir os tecidos e órgãos cultivados *in vitro* com macro e micronutrientes e carboidratos que forneçam energia e esqueletos de carbono para a biossíntese de aminoácidos, proteínas, polissacarídeos estruturais e todos os compostos orgânicos necessários para o crescimento das células.

Normalmente, o meio de cultura é suplementado com vitaminas, aminoácidos e reguladores de crescimento. O tipo de regulador de crescimento a ser adicionado depende do propósito do estudo, do tipo do explante e da espécie vegetal.

A consistência do meio de cultura também exerce efeito fundamental na morfogênese e no crescimento das brotações, podendo causar sérios transtornos no desenvolvimento esperado do explante se as suas exigências básicas não forem atendidas.

O isolamento de ápices meristemáticos é de grande valor porque origina plantas livres de patógenos, pois as plantas propagadas vegetativamente são continuamente infectadas por doenças que passam de uma geração para a outra através dos propágulos (Wang e Charles, 1991). Para superar o problema da contaminação patogênica, têm-se utilizado, com êxito, programas de propagação

de ápices caulinares e/ou meristemas (Grattapaglia e Machado, 1998). Outra técnica que tem sido usada em associação à cultura de meristemas é a termoterapia, que consiste no tratamento da planta matriz com altas temperaturas durante um período de 3 a 6 semanas, visando eliminar contaminações sistêmicas latentes que depreciam a cultura no seu valor nutricional e produtivo (Kyte e Kleyn, 1996). Segundo George (1993), essa associação de técnicas tem sido mais efetiva do que quando se utiliza somente a cultura de meristemas.

Vários relatos têm sido encontrados na literatura utilizando a cultura de meristemas associada ou não à termoterapia, como no caso da mandioca (*Manihot sculenta* Crantz), em que Kartha e Gamborg (1975) utilizaram a cultura de meristemas para eliminar o vírus do mosaico. Trabalhando com cultura de meristemas de ápices florais de bananeira (*Musa acuminata* Colla), Cronauer e Krikorian (1985) obtiveram plântulas livres de vírus.

O meio de cultura utilizado no cultivo *in vitro* também é muito importante, pois atua sobre o ritmo de crescimento e a proliferação das brotações (Mantell, Mathews e Mckee, 1994). Portanto, para que se obtenha um desenvolvimento adequado do explante, é necessário que se adicionem ao meio de cultura, além dos macro e micronutrientes e vitaminas, reguladores de crescimento, cujas concentração e composição são fatores determinantes no crescimento e padrão de desenvolvimento da maioria dos sistemas de cultura de tecidos (Caldas, Haridasan e Ferreira, 1990).

No cultivo *in vitro*, os reguladores de crescimento, especialmente as auxinas e citocininas, desempenham um papel muito importante. As auxinas são geralmente utilizadas quando o propósito é o alongamento celular, a expansão dos tecidos e divisão celular (formação de calo), a formação de raízes e a embriogênese dos cultivos em suspensão; já as citocininas são freqüentemente utilizadas para estimular o crescimento e desenvolvimento de brotações múltiplas (Pierik, 1990; Einsert, 1991; George, 1993). Entretanto, Passos e

Katerman (1994), estudando a produção de calo embriogênico de diferentes explantes de capim-elefante, observaram não ser necessária a suplementação do meio de cultura convencionalmente utilizado com BAP e ANA (ácido naftalenoacético) para induzir a produção de calos.

Outro fator de fundamental importância no estabelecimento do cultivo *in vitro* é a consistência do meio de cultura, que pode ser suplementado com ágar ou gel, ou ainda ser líquido. Cada cultura, quando submetida a uma mesma composição de meio de cultura, alterando-se apenas a sua consistência, pode apresentar comportamento completamente distinto. De acordo com George (1993), a taxa de crescimento de um explante pode ser influenciada pela natureza física do meio de cultura. O meio de cultura solidificado com ágar poderá causar problemas na morfogênese de certas culturas devido à presença de substâncias inibidoras, em sua composição, que poderão diminuir a taxa de crescimento e aumentar a presença de exudatos próximos aos explantes. Também pode ficar aderido às raízes, causando transtorno na lavagem das mesmas antes do transplante ao solo.

Segundo Caldas, Haridasan e Ferreira (1990), os géis são gomas que resistem a degradação enzimática, não são tóxicas e têm promovido respostas superiores em muitas culturas herbáceas, em comparação ao meio de cultura suplementado com ágar.

O meio de cultura líquido é essencial para culturas em suspensão e é preferido em experimentos críticos de nutrição, crescimento e diferenciação celular dos calos. Culturas de ápices podem, muitas vezes, ter um crescimento satisfatório mesmo sem agitação. A mudança para o meio de cultura líquido pode, às vezes, ajudar a resolver alguns problemas encontrados nos meios solidificados, como o acúmulo de exudatos fenólicos, folhas marrons ou baixo crescimento. Normalmente, as culturas em meio líquido devem ser aeradas através da agitação ou outro processo. Porém, quando os explantes tiverem

tamanho igual ou superior a 2,5 cm de comprimento, a sua base pode ser imersa em 3 a 5 ml de meio líquido, não sendo mais necessária a agitação pois a parte superior do explante fica exposta ao ar ambiente (Kyte e Kleyn, 1996).

O objetivo deste experimento foi definir a concentração da citocinina BAP (benzilaminopurina) e o tipo de consistência do meio de cultura que proporcionam o maior número de brotações, número de raízes e altura do explante principal, *in vitro*, no capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Localização dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, no período de julho de 1999 a setembro de 2000.

4.2 Material Experimental

Para a condução dos experimentos, utilizaram-se meristemas apicais de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro, submetidas ao tratamento da termoterapia, provenientes do Banco Ativo de Germoplasma de Capim-elefante (BAGCE) da Embrapa Gado de Leite, Coronel Pacheco – MG.

4.3 Termoterapia

Os colmos obtidos no BAGCE foram fracionados em estacas com 3 a 4 gemas, plantadas em sacos plásticos com 5 litros de solo cada, previamente preparados e colocados em casa-de-vegetação da Embrapa Gado de Leite, na segunda quinzena de julho de 1999, e conduzidos até suas brotações atingirem 20 cm. Uma vez atingida a altura mínima, foi iniciado o tratamento da termoterapia na casa-de-vegetação da Embrapa Gado de Leite, com temperaturas variando de 30 e 45°C (noite e dia, respectivamente). O tratamento da termoterapia foi realizado por um período de 20 dias, e após esse período foram

coletados os 20 cm superiores do caule, contendo o meristema apical, e preparados para a desinfecção.

4.4 Preparo e inoculação do material

O meio de cultura utilizado no processo de micropropagação foi composto por um meio salino MS (Murashige e Skoog, 1962), acrescido de vitaminas do meio WPM (Lloyd e McCown, 1980), 3% de sacarose e suplementado ou não com 0,7% de ágar. O pH do meio foi corrigido para $5,7 \pm 0,1$. O tubo foi tampado e autoclavado a 120°C , um dia antes da inoculação.

O preparo do material consistiu na retirada de boa parte das lâminas foliares que se encontravam protegendo o meristema apical, de modo a reduzir o tamanho deste fragmento de caule para aproximadamente 0,5 cm de diâmetro e 2,0 cm de comprimento, constituindo o explante.

O material, assim obtido, foi submerso em uma solução de hipoclorito de sódio 1% e agitado por 20 minutos, sendo então enxaguado três vezes com água destilada estéril, em ambiente asséptico. Em seguida, o material foi colocado sobre papel absorvente, em placa de Petri, para retirar o excesso de água. Com auxílio de microscópio estereoscópico, em capela de fluxo de ar laminar, o meristema apical foi retirado e inoculado em tubos de ensaio de 25 x 150 mm, contendo 15 ml do meio de cultura (Figura 2).

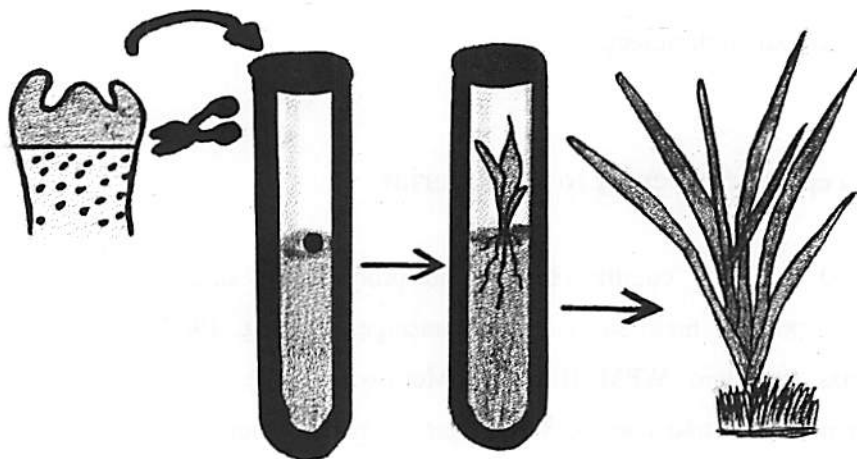


FIGURA 2. Esquema do processo da micropropagação por cultura de meristema.

Inoculado o meristema, o frasco foi tampado e vedado com filme PVC e levado para a sala de crescimento, mantido sob condição de iluminação de 2000 lux e temperatura constante de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Os materiais foram observados e todos aqueles que estavam contaminados e/ou mortos foram eliminados.

O material que se desenvolveu em meio de cultura foi multiplicado até atingir o número de plantas necessário para uma posterior avaliação.

4.5 Tratamentos, delineamento experimental e variáveis avaliadas

Explantos secundários individualizados, com 30 mm de comprimento, foram inoculados em meio de cultura MS, suplementado com WPM, 3% de sacarose e pH $5,7 \pm 0,1$. A multiplicação de explantes secundários foi realizada em duas fases, que compuseram dois experimentos distintos. Os materiais foram

avaliados aos 49 dias quanto ao número de brotações emitidas, número de raízes e altura do explante principal.

Os dados dos parâmetros avaliados foram analisados pelo programa computacional SISVAR (Ferreira, 2000), utilizando os esquemas tradicionais de análise de variância apresentados nas Tabelas 1 e 2. Quando houve efeito significativo de consistência de meio, na fase 1, usou-se o teste de F para comparar os dois tipos de consistência, o mesmo usado para cultivares na fase 2. Quando houve efeito significativo para a concentração de BAP, usou-se a análise de regressão para estudar as variáveis avaliadas em função das concentrações do fitorregulador BAP (na fase 1). Para os tipos de consistências do meio de cultura, na fase 2, utilizou-se o teste de Scott Knott.

1ª Fase: O meio de cultura utilizado foi suplementado com 0,00; 4,44; 8,88; 13,32 e 17,76 μM de BAP e suplementado ou não com 0,7% de ágar. Nesta fase, cada experimento envolveu uma das cultivares Mineiro, Taiwan A-147 ou Pioneiro.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com 5 repetições, com os tratamentos dispostos em um esquema fatorial 2 x 5, sendo constituídos por dois tipos de consistências de meio de cultura (sólido e líquido) e cinco níveis do fitorregulador BAP (0,00; 4,44; 8,88; 13,32 e 17,76 μM). Cada parcela (unidade experimental) foi constituída por três tubos de ensaio, com um explante/tubo.

TABELA 1. Esquema da análise de variância da avaliação das concentrações de BAP e consistências do meio de cultura

FV	GL
Blocos	4
Consistência do meio (CM)	1
Concentração do fitorregulador (CF)	4
CM X CF	4
Erro	36
TOTAL	49

O modelo linear adaptado por Petersen (1994) para esse experimento foi:

$$y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + r_k + ab_{ij} + e_{ijk}$$

sendo,

y_{ijk} = valor observado na consistência do meio i , concentração do fitorregulador j e na repetição k ;

μ = média geral;

a_i = efeito da consistência do meio i , com $i = 1, 2$;

b_j = efeito do nível do fitorregulador j , com $j = 1, 2, 3, 4, 5$;

r_k = efeito do bloco, com $k = 1, 2, 3, 4, 5$;

ab_{ij} = efeito da interação da consistência do meio i com o fitorregulador j ;

e_{ijk} = erro experimental associado à observação y_{ijk} .

2ª Fase: Explantes foram inoculados em meio de cultura líquido e sólido contendo 0,7% de ágar ou 0,2% de phytagel, e foram suplementados com 4,44 e 8,88 μM de BAP, respectivamente, para as cultivares Mineiro e Pioneiro (definido na 1ª fase). A cv. Taiwan A-147 não participou desta fase por deficiência de material.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com 5 repetições, sendo os tratamentos dispostos em um esquema fatorial 2×3 ,

consistindo de duas cultivares (Mineiro e Pioneiro) e três tipos de consistências de meio de cultura (sólificado com ágar, solidificado com phytigel e líquido). Cada parcela (unidade experimental) foi constituída por três tubos de ensaio, com um explante/tubo.

TABELA 2. Esquema da análise de variância da avaliação das consistências de meio de cultura em duas cultivares de capim-elefante.

FV	GL
Blocos	4
Cultivar (CV)	1
Consistência do Meio (CM)	2
CV X CM	2
Erro	20
TOTAL	29

O modelo linear adaptado por Petersen (1994) para esse experimento foi:

$$y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + r_k + ab_{ij} + e_{ijk},$$

sendo:

y_{ijk} = valor observado na cultivar i , na consistência do meio j e na repetição k ;

μ = média geral;

a_i = efeito da cultivar i , com $i = 1, 2$;

b_j = efeito da consistência do meio j , com $j = 1, 2, 3$;

r_k = efeito do bloco, com $k = 1, 2, 3, 4, 5$;

ab_{ij} = efeito da interação da cultivar i com a consistência do meio j ;

e_{ijk} = erro experimental.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Proliferação de capim-elefante em diferentes concentrações de regulador de crescimento e consistências do meio de cultura: 1ª Fase

5.1.1 Número de brotações

O fitorregulador BAP mostrou-se bastante eficiente para promover brotações múltiplas (Tabela 3), sendo o seu efeito significativo para todas as cultivares estudadas. Isto comprova a importância do genótipo na diferenciação celular. Segundo Grattapaglia e Machado (1990), BAP é a citocinina mais potente para promover proliferação de brotações de parte aérea, com a vantagem de ser de mais baixo custo.

A adição de concentrações do fitorregulador BAP proporcionou aumentos expressivos no número de brotações da cv. Mineiro, em ambos os meios de cultura (Figura 3). No meio sólido, os números de brotos máximo e mínimo estimados foram de 9,4 e 5,6, em 6,14 e 14,45 μm de BAP, respectivamente, enquanto, no meio de cultura líquido, estes números foram 5,2 e 4,0, em 6,82 e 14,21 μm de BAP, respectivamente. Observa-se uma nítida superioridade do meio de cultura sólido sobre o líquido na emissão de brotações da cv. Mineiro (Figura 3 e Tabela 3).

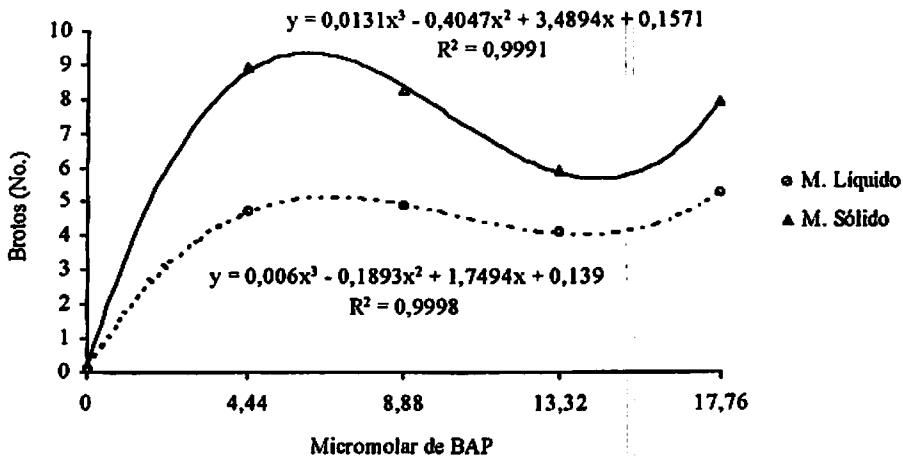


FIGURA 3. Representação gráfica e equações de regressão para número de brotos em função das diferentes concentrações de BAP nos meios de cultura líquido e sólido, em explantes de capim-elefante, cv. Mineiro.

A cv. Taiwan A-147 mostrou significativo aumento ($P < 0,05$) de brotações laterais quando os meios de cultura foram suplementados com BAP, com o meio de cultura sólido superando vantajosamente o meio líquido (Figura 4 e Tabela 3). As derivadas das equações mostram números máximos estimados de brotações de 9,5 em 7,21 μm de BAP e de 3,8 em 13,6 μm de BAP, ao passo que os números mínimos estimados foram de 7,5 em 14,3 μm de BAP e de 3,6 em 9,2 μm de BAP, respectivamente para os meios de cultura sólido e líquido.

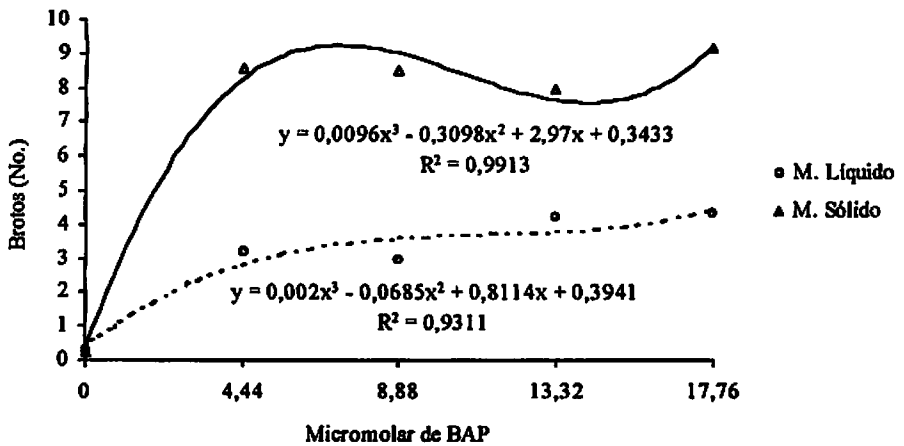


FIGURA 4. Representação gráfica e equações de regressão para número de brotos em função das diferentes concentrações de BAP nos meios de cultura líquido e sólido, em explantes de capim-elefante, cv. Taiwan A-147.

Para a cv. Pioneiro (Figura 5), também houve resposta positiva do número de brotações à adição do fitorregulador BAP. O meio de cultura sólido também mostrou-se superior ao meio líquido na emissão de brotações da cv. Pioneiro (Figura 5 e Tabela 3). Os números máximo e mínimo de brotações no meio sólido foram 8,7 em 6,2 μm de BAP e 3,9 em 16,0 μm de BAP; já no meio líquido estes números foram 2,8 em 5,3 μm de BAP e 1,2 em 14,3 μm de BAP.

Quando brotos apicais são cultivados em meio contendo citocinina, ocorre o crescimento e desenvolvimento de brotos axilares prematuramente, pois as citocininas constituem um grupo de fitorreguladores indispensáveis para a quebra de dominância apical e indução de proliferação de gemas axilares (Grattapaglia e Machado, 1990; Pierik, 1990; Einsert, 1991; George, 1993; Mantell, Mathews e Mckee 1994).

Rodrigues (1994), estudando a produção de brotações em bananeira cv. maçã, obteve 4,9 brotos quando utilizou 7 mg/l de BAP e 0,1 mg/l de AIA (ácido indol-3-acético). Salarini (1995) obteve as melhores brotações das bananeiras cvs. prata anã e ouro da mata em 24 e 30 μM de BAP, respectivamente. Nannanetti (1994) registrou um máximo de 2,21 brotos por explante de *Heliconia* sp. na concentração de 11,1 μM de BAP.

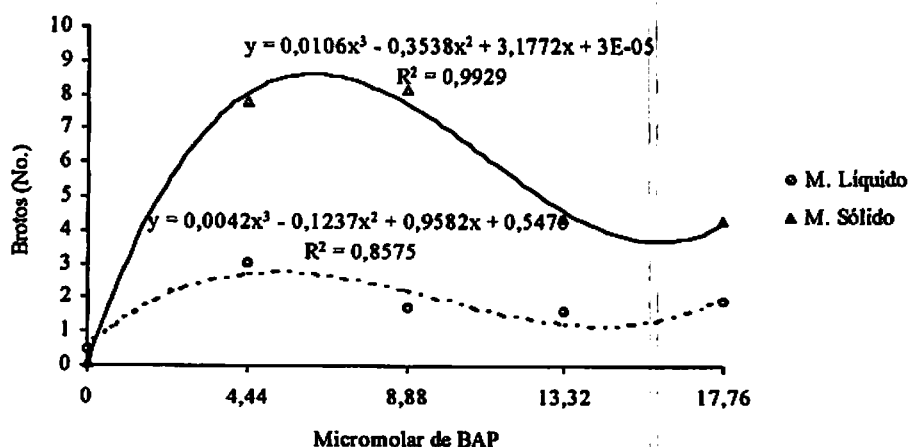


FIGURA 5. Representação gráfica e equações de regressão para número de brotos em função das diferentes concentrações de BAP nos meios de cultura líquido e sólido, em explantes de capim-elefante, cv. Pioneiro.

Zanette, Pailo e Moraes (1988) obtiveram média de 8 brotações por explante de capim-elefante cv. Napier, após um período de 25 a 35 dias, em meio de cultura com 1 mg/l de BAP; 0,01 mg/l de ANA (ácido naftalenoacético) e 0,1 mg/l de GA_3 (ácido giberélico).

Os resultados obtidos no presente trabalho, das três cultivares estudadas, mostram a importância do genótipo e a eficiência das diferentes concentrações do fitoregulador BAP, aos 49 dias de idade, para a produção de brotos

múltiplos, originando valores próximos daquele obtido pelos autores anteriormente citados, no meio de cultura sólido.

A superioridade do meio sólido sobre o meio líquido pode ter ocorrido em resposta ao potencial osmótico menos negativo do meio líquido em relação ao meio sólido, ocasionando maior perda de água da célula para o meio de cultura e causando estresse osmótico na célula (George, 1993); ou estresse hídrico, pois a cultura em ambiente natural não suporta o excesso de umidade dos solos mal drenados (Jacques, 1997). O excesso na concentração dos macro e microelementos também pode causar estresse hídrico na célula. Caldas, Haridasan e Ferreira (1990) relatam que o meio de cultura líquido pode requerer menores quantidade de macro e micronutrientes.

TABELA 3. Número de brotações provenientes de explantes das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro em função de níveis de BAP e consistências do meio de cultura.

Concentração (μM de BAP)	Cultivar					
	Mineiro		Taiwan A-147		Pioneiro	
	Sólido	Líquido	Sólido	Líquido	Sólido	Líquido
0,00	0,13 a	0,13 a	0,27 a	0,29 a	0,07 b	0,46 a
4,44	8,92 a	4,73 b	8,60 a	3,23 b	7,80 a	3,06 b
8,88	8,26 a	4,26 b	8,52 a	2,99 b	8,13 a	1,73 b
13,32	5,93 a	4,13 a	8,00 a	4,20 b	4,33 a	1,60 b
17,76	7,93 a	5,26 a	9,20 a	4,33 b	4,26 a	1,93 b
CV (%)	47,85		30,32		47,97	

Médias dos meios de cultura sólido e líquido, seguidas por letras diferentes na linha e em cada combinação de cultivar e concentração de BAP, diferem entre si pelo teste de F ($P < 0,05$).

5.1.2 Número de raízes

O grupo das citocininas normalmente inibe a indução e crescimento de raízes. Neste caso, o BAP não inibiu a indução e o crescimento das raízes,

apenas reduziu o número quando se utilizaram concentrações superiores a 4,44 μm . Isto talvez seja decorrente da deficiência no nível endógeno deste regulador de crescimento no explante.

A suplementação do meio de cultura com BAP (Figuras 6, 7 e 8 e Tabela 4) afetou de modo significativo o número de raízes, tanto no meio de cultura sólido quanto no líquido, exceto na cv. Taiwan A-147, no meio sólido, quando houve redução linear dessa variável.

A cv. Mineiro exibiu uma emissão de raízes por explante que se ajustou a uma equação de 3ª grau, com números máximo e mínimo estimados de 5,68 em 4,3 μm de BAP e de 1,53 em 16,66 μm de BAP, no meio sólido. Já no meio líquido, esses números variaram de 3,08 em 4,14 μm de BAP e de 2,21 em 14,8 μm de BAP (Figura 6).

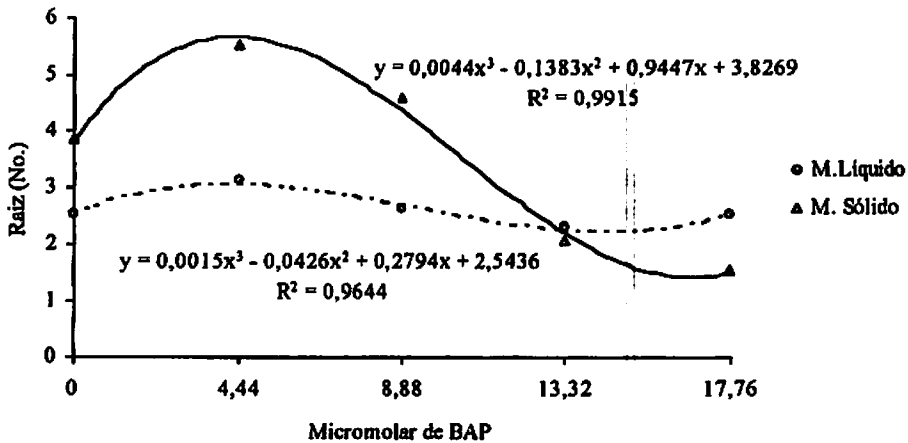


FIGURA 6. Representação gráfica e equações de regressão para número de raízes em função das diferentes concentrações de BAP nos meios de cultura líquido e sólido, em explantes de capim-elefante, cv. Mineiro.

O número de raízes por explante da cv. Taiwan A-147 decresceu linearmente em resposta aos níveis crescentes de BAP, no meio de cultura sólido. Por outro lado, no meio líquido a resposta ajustou-se a uma equação de 3ª grau, com números máximo e mínimo estimados de raízes de 3,53 em 2,76 μm de BAP e 0,88 em 14,59 μm de BAP (Figura 7).

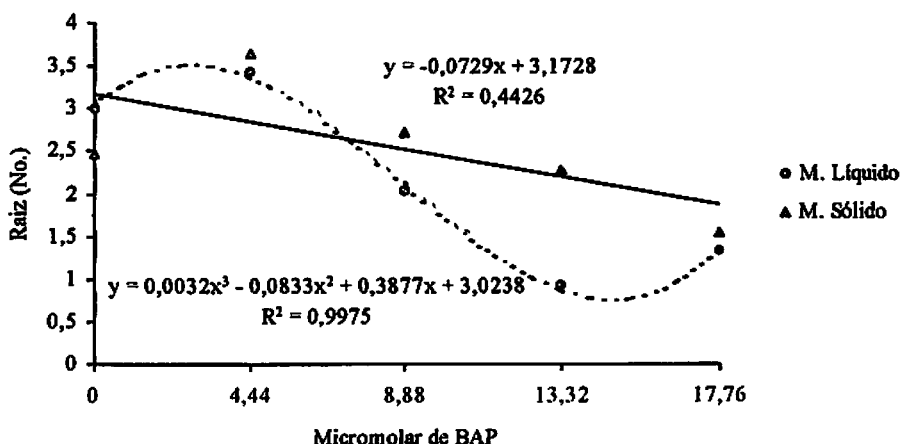


FIGURA 7. Representação gráfica e equações de regressão para número de raízes em função das diferentes concentrações de BAP nos meios de cultura líquido e sólido, em explantes de capim-elefante, cv. Taiwan A-147.

Na cv. Pioneiro, a resposta do número de raízes por explante foi quadrática, no meio líquido, com um número máximo estimado de 4,14 raízes por explante, na concentração de 6,38 μM de BAP (Figura 8). No meio sólido, o melhor ajuste do número de raízes por explante foi obtido por uma equação de 3ª grau, com números máximo e mínimo estimados de 6,91 na concentração de 4,02 μM de BAP e de 1,01 na concentração de 14,14 μM de BAP.

Observando o comportamento do número de raízes por explante em função da concentração de BAP, para as três cultivares, nota-se que nas

concentrações mais elevadas houve uma tendência de redução no número de raízes, resultado devido ao efeito da citocinina, que é um inibidor potencial da produção de raízes. Portanto, para uma maior produção de raízes, deve-se evitar o uso desse regulador de crescimento.

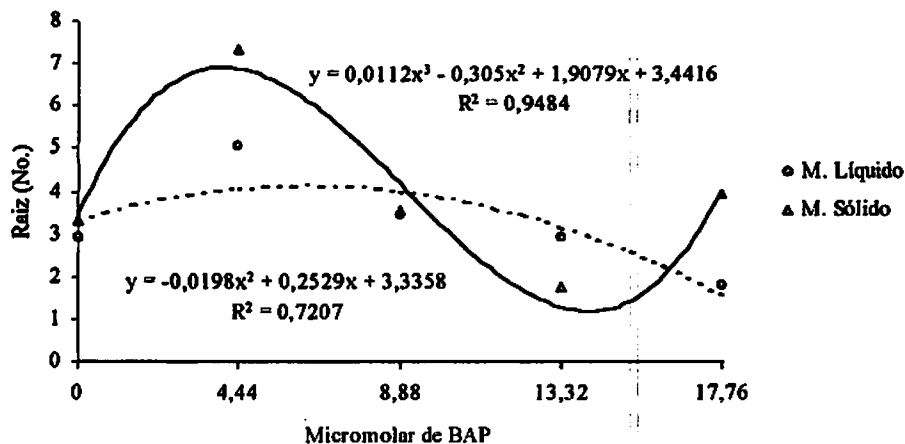


FIGURA 8. Representação gráfica e equações de regressão para número de raízes em função das diferentes concentrações de BAP nos meios de cultura líquido e sólido, em explantes de capim-elefante, cv. Pioneiro.

Nannanetti (1994) verificou que a maior produção de raízes de *Heliconia* sp ocorria na ausência do fitorregulador BAP; já Zanette, Pailo e Moraes (1988) obtiveram 85% de enraizamento do capim-elefante cv. Napier ao utilizarem meio de cultura suplementado com 22,20 μ M de BAP, muito acima de 6,38 μ M de BAP, utilizado no presente estudo. Para Salarini (1995), 30 μ M de BAP não foram suficientes para induzir o enraizamento das cultivares de bananeira prata e prata anã.

Finch et al. (1992) constataram comportamento diferenciado das espécies de arroz selvagem (*Oryza* spp) e outras gramíneas em relação ao enraizamento,

mostrando variações na suplementação desde 0,00 até 10,8 μ M de BA (Benziladenina).

TABELA 4. Número de raízes por explante das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro em função de níveis de BAP e consistências de meio de cultura.

Concentração μ M de BAP	Cultivar					
	Mineiro		Taiwan A-147		Pioneiro	
	Sólido	Líquido	Sólido	Líquido	Sólido	Líquido
0,00	3,86 a	2,53 a	2,46 a	3,01 a	3,33 a	2,93 a
4,44	5,53 a	3,13 b	3,65 a	3,43 a	7,33 a	5,06 b
8,88	4,60 a	2,64 a	2,73 a	2,03 a	3,53 a	3,46 a
13,32	2,07 a	2,33 a	2,26 a	0,93 a	1,73 a	2,93 a
17,76	1,53 a	2,53 a	1,53 a	1,33 a	3,93 a	1,80 a
CV (%)	44,73		51,91		36,14	

Médias dos meios de cultura sólido e líquido, seguidas por letras diferentes na linha e em cada combinação de cultivar e concentração de BAP, diferem entre si pelo teste de F ($P < 0,05$).

Lee, Wetzstein e Sommer (1986), estudando o emprego do meio de cultura suplementado com ágar e meio líquido, em *Liquidambar styraciflua* L., obtiveram a maior produção de raízes no meio de cultura líquido. No presente estudo, os resultados mostram que a maior emissão de raízes das cvs. Mineiro e Pioneiro ocorreu no meio de cultura sólido.

5.1.3 Altura dos explantes

As alturas dos explantes das três cultivares de capim-elefante apresentaram comportamento semelhante nas duas consistências de meio de cultura, diminuindo à medida que aumentou a concentração do fitorregulador nesses meios (Figuras 9, 10 e 11). As alturas dos explantes da cv. Mineiro reduziram linearmente à medida que aumentaram os níveis de BAP, nos dois

meios de cultura (Figura 9). Analisando esses comportamentos, espera-se uma redução média de 0,118 cm e 0,053 cm na altura dos explantes, respectivamente, para os meios sólido e líquido, para cada uma unidade que se acrescenta na concentração de BAP.

As citocininas pertencem a um grupo de reguladores de crescimento que afetam mais a divisão celular do que o alongamento. Os dados do presente trabalho mostraram um decréscimo na altura dos explantes à medida que foi aumentada a concentração do regulador de crescimento no meio de cultura, comprovando a função do regulador de crescimento BAP.

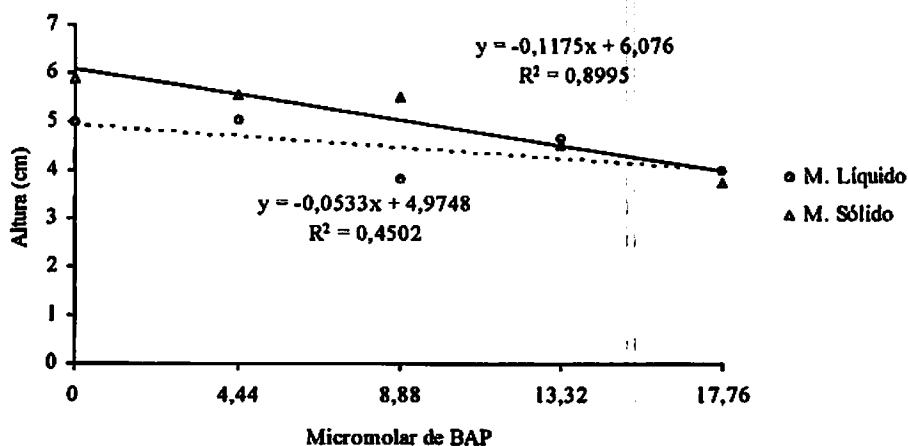


FIGURA 9. Representação gráfica e equações de regressão para altura em função das diferentes concentrações de BAP nos meios de cultura líquido e sólido, em explantes de capim-elefante, cv. Mineiro.

Na cv. Taiwan A-147, a altura dos explantes apresentou comportamento um pouco diferenciado. No meio sólido, os explantes tornaram-se menores com o aumento dos níveis de BAP, de forma linear, enquanto no meio líquido essa

redução foi quadrática, podendo-se estimar que na concentração de 9,93 μM de BAP obtém-se a menor altura, que é de 3,6 cm (Figura 10).

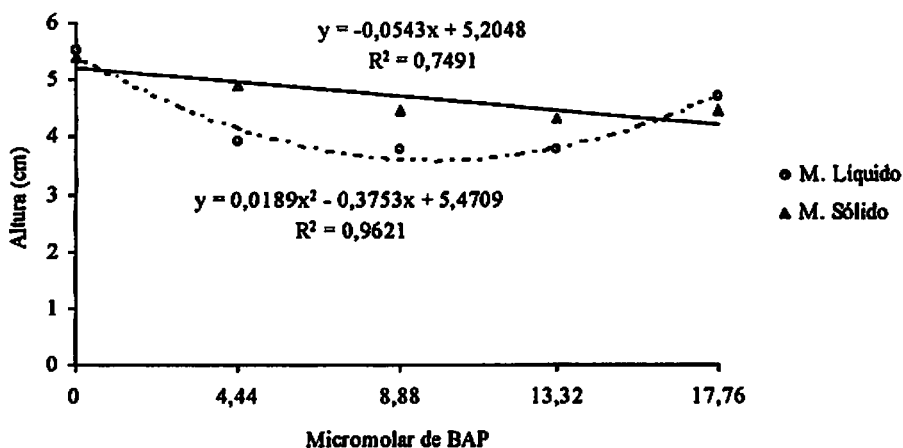


FIGURA 10. Representação gráfica e equações de regressão para altura em função das diferentes concentrações de BAP nos meios de cultura líquido e sólido, em explantes de capim-elefante, cv. Taiwan A-147.

A cv. Pioneiro sofreu uma redução de altura dos seus explantes de forma quadrática (meio de cultura sólido) e cúbica (meio de cultura líquido) (Figura 11). No meio sólido, a altura mínima estimada foi de 3,6 cm na concentração de 12,74 μM de BAP, e no meio líquido as alturas máxima e mínima estimadas foram de 4,01 e 3,59 cm, nas concentrações de 13,99 e 6,93 μM de BAP, respectivamente.

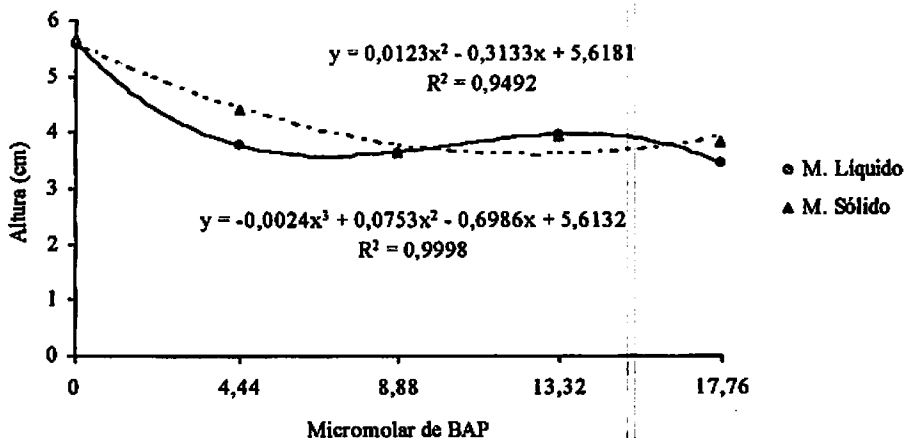


FIGURA 11. Representação gráfica e equações de regressão para altura em função das diferentes concentrações de BAP nos meios de cultura líquido e sólido, em explantes de capim-elefante, cv. Pioneiro.

Nannetti (1994) observou que a maior altura de explantes de *Heliconia* sp (6,4 cm) ocorria quando se empregava a concentração de 22,20 μ M de BAP. De outra forma, Cerqueira (1999) verificou que as plantas mais altas de erva-de-touro (*Tridax procumbens* L.) se encontravam nas concentrações de BAP mais próximas de zero.

Segundo Mantell, Matthews e Mckee (1994), os brotos apicais crescem mais quando cultivados em meio de cultura isento de fitorregulador, e têm o crescimento apical inibido quando for acrescentada citocinina ao meio de cultura. Os resultados do presente trabalho confirmam esta observação.

As maiores alturas dos explantes das três cultivares foram estimadas no meio isento de fitorregulador (Tabela 5), sendo de 6,08 e 4,97; 5,2 e 5,47 e de 5,62 e 5,61, respectivamente, para as cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro, nos meios de cultura sólido e líquido.

TABELA 5. Alturas dos explantes (cm) das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro em função de níveis de BAP e consistências do meio de cultura.

Concentração μM de BAP	Cultivar					
	Mineiro		Taiwan A-147		Pioneiro	
	Sólido	Líquido	Sólido	Líquido	Sólido	Líquido
0,00	5,86 a	4,99 a	5,41 a	5,55 a	5,68 a	5,61 a
4,44	5,54 a	5,04 a	4,92 a	3,96 b	4,40 a	3,80 a
8,88	5,48 a	3,83 b	4,46 a	3,81 a	3,64 a	3,64 a
13,32	4,52 a	4,65 a	4,34 a	3,79 a	3,93 a	4,00 a
17,76	3,76 a	4,00 a	4,49 a	4,73 a	3,83 a	3,46 a
CV (%)	19,10		14,66		13,15	

Médias dos meios de cultura sólido e líquido, seguidas por letras diferentes na linha e em cada combinação de cultivar e concentração de BAP, diferem entre si pelo teste de F ($P < 0,05$).

Os resultados mostraram que as maiores alturas dos explantes foram obtidas em meio de cultura isento de fitorregulador, o que concorda com Taiz e Zieger, (1991); Arteca, (1996); Pasqual, Hoffmann e Ramos, (1997), entre outros. Isso se verifica porque as citocininas são fitorreguladores que promovem a divisão celular nas plantas e o crescimento de gemas laterais como consequência da quebra da dominância apical.

Vidigal, Passos e Silva (1998), estudando a perda de vigor do capim-elefante, observaram que algumas cultivares apresentaram maior altura no meio de cultura isento de fitorregulador; entretanto, outras cresciam mais no meio de cultura suplementado com $0,125 \mu\text{M}$ de ANA. Já Zhang e Davies (1986), estudando o cultivo *in vitro* de *Lagerstroemia indica* L., verificaram as maiores alturas de explantes em meio de cultura desprovido de fitorregulador.

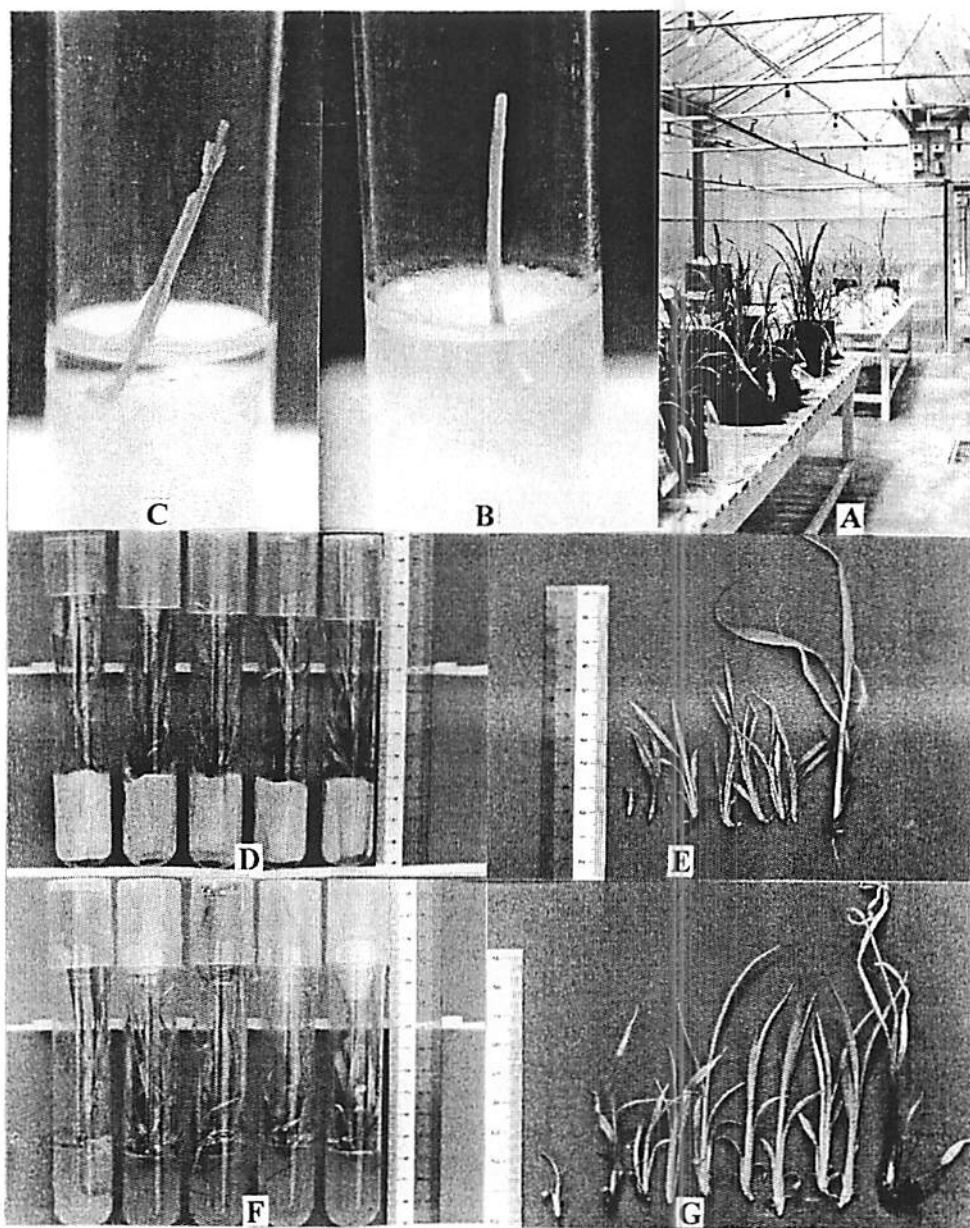


FIGURA 12: Fotos ilustrativas mostrando (A) a casa de vegetação da Embrapa Gado de Leite e o painel de controle para o procedimento da termoterapia; (B e C) tamanho e aspecto dos explantes inoculados no meio de cultura sólido e líquido, respectivamente; (D e F) aspecto dos explantes da cv. Mineiro nos meios de cultura líquido e sólido (da esquerda para a direita 0,00; 4,44; 8,88; 13,32 e 17,76 μM de BAP); (E) maior número de brotos foi obtido em 17,76 μM de BAP, no meio de cultura líquido e (G) em 4,44 μM de BAP no meio de cultura sólido.

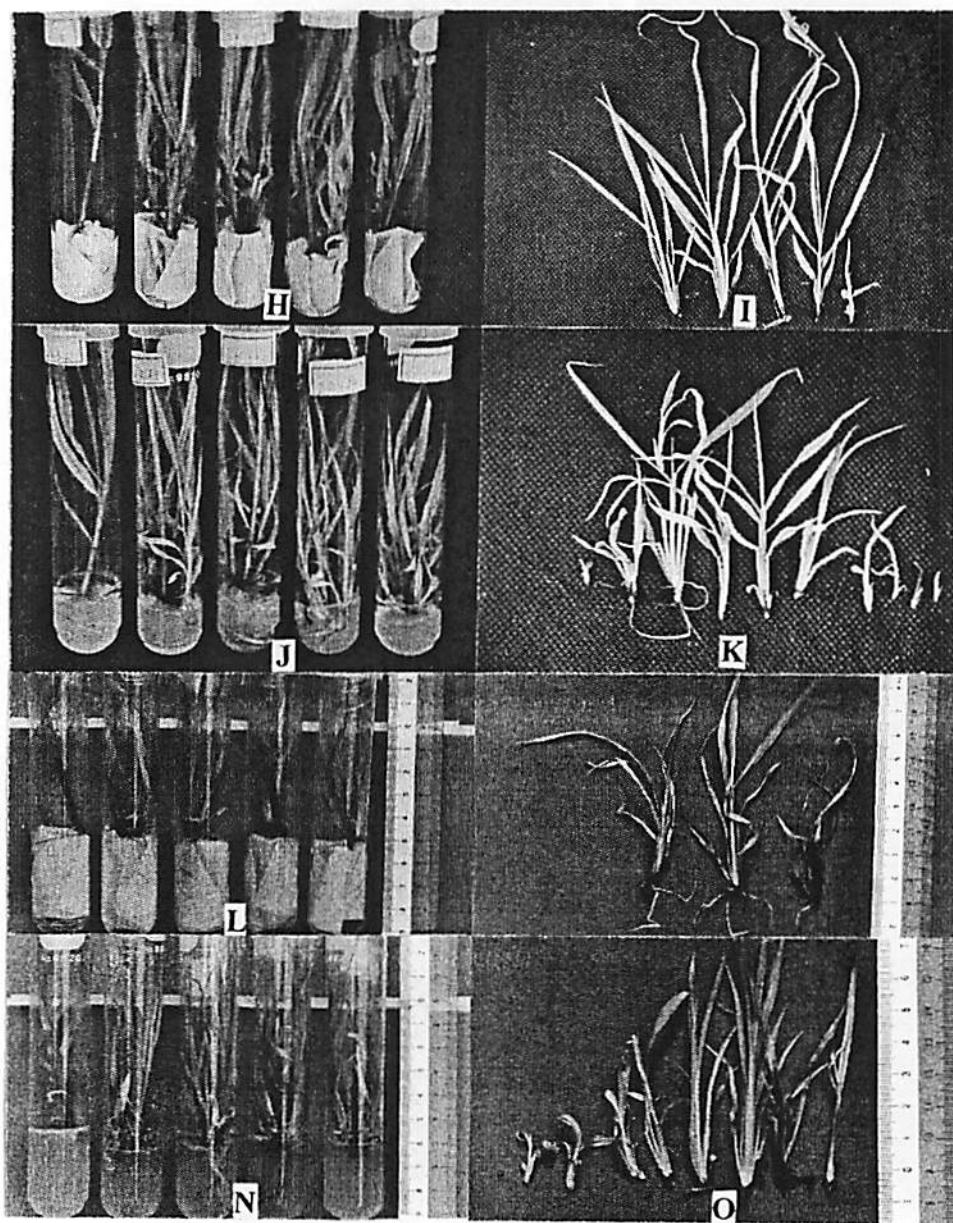


FIGURA 13: Fotos ilustrativas mostrando (H e J) a cv. Taiwan A-147 nos meios de cultura líquido e sólido (da esquerda para a direita 0,00; 4,44; 8,88; 13,32 e 17,76 μM de BAP); (I e K) sendo o maior número brotos encontrados em 17,76 μM de BAP para os meios de cultura líquido e sólido; (L e N) mostrando a cv. Pioneiro nos meios de cultura líquido e sólido (mesmas concentrações da cv. Taiwan A-147), com o maior número de brotos em 4,44 e 8,88 μM de BAP, respectivamente nos meios de cultura sólido e líquido.

5.2 Avaliação das consistências do meio de cultura: 2ª Fase

5.2.1 Número de brotações

O meio de cultura líquido apresentou número de brotos por explante inferior ($P < 0,05$) aos meios contendo ágar e phytigel, na produção de brotos das cvs. Mineiro e Pioneiro, sendo que os dois últimos meios não diferiram entre si (Tabela 6). Este resultado indica uma melhor adaptação do capim-elefante ao meio de cultura sólido em relação ao meio líquido, decorrente de um possível excesso de umidade do meio de cultura líquido em relação aos meios sólidos, do potencial osmótico menos negativo do meio líquido em relação aos meios solidificados com ágar e phytigel, ocasionando maior perda de água da célula, promovendo, assim, um estresse osmótico, ou ainda por excesso de macro e micronutrientes, já que o meio líquido possuía a mesma quantidade do meio sólido. Caldas, Haridasan e Ferreira (1990) alertam que, possivelmente, o meio de cultura líquido necessita de menores quantidades de macro e micronutrientes pelo fato de o gradiente desses elementos se estabelecer mais facilmente em relação às necessidades nutricionais da planta. Coelho (1999) verificou que o meio de cultura líquido foi mais favorável do que o ágar, ágar lavado e o phytigel, para o desenvolvimento dos embriões de sucupira branca. Finch et al. (1992), estudando o comportamento de diferentes espécies de arroz selvagem e outras gramíneas em diferentes agentes gelificantes do meio de cultura, obtiveram os melhores resultados em 2 mg/l de BA, suplementado com phytigel, para *Oryza longistaminata*, *O. rufipogon* e *Leersia perrieri*. No entanto, para as espécies *Leptochloa fusca* e *O. officinalis*, as melhores brotações foram encontradas no meio de cultura contendo agarose, e a *O. granulata* mostrou resposta superior em 4 mg/l de BA suplementado com ágar.

TABELA 6. Número de brotos por explante de capim-elefante, provenientes das cvs. Mineiro e Pioneiro em função dos tipos de substrato.

Tipo de Substrato	Cultivar	
	Mineiro	Pioneiro
Líquido	4,86 Ba	6,20 Ba
Ágar	9,13 Aa	10,73 Aa
Phytigel	11,33 Aa	9,20 Aa
CV (%)	23,80	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna (Teste de Scott e Knott, 5%) e minúscula na linha (Teste de F, 5%), diferem entre si.

5.2.2 Número de raízes

A emissão de raízes em explantes provenientes das cvs. Mineiro e Pioneiro ocorreu de modo semelhante em ambas as cultivares, sendo que os meios de cultura líquido e o suplementado com ágar tiveram menor emissão de raízes do que o meio de cultura contendo phytigel (Tabela 7). Não houve diferença significativa entre os números de brotos das cvs. Mineiro e Pioneiro em cada tipo de substrato (Tabela 7). Este resultado para o meio de cultura líquido também pode ter sido decorrente de algum excesso de umidade ou excesso de sais; já no caso do meio contendo ágar, o número inferior de raízes pode ter surgido pela presença de alguns componentes tóxicos. Como o phytigel é uma goma que não contém substâncias tóxicas em sua composição, justifica-se a obtenção dos melhores resultados na produção de raízes.

Uma vantagem verificada neste processo é que mesmo quando submetido a concentrações de BAP, ocorre a formação de número satisfatório de raízes. Sabe-se que o BAP é uma citocinina cujas principais características são a quebra da dominância apical e inibição da formação de raízes, tornando necessária, para a maioria das culturas, a sua eliminação do meio de cultura. Às vezes ainda

precisa haver a inclusão de reguladores de crescimento que estimulem a formação de raízes.

Os resultados obtidos para a consistência do meio de cultura para produção de raízes, neste trabalho, discordam dos de Lee, Wetzstein e Sommer (1986), que obtiveram o maior número de raízes de explantes de *Liquidambar styraciflua* L. em meio líquido.

TABELA 7. Número de raízes dos explantes das cvs. Mineiro e Pioneiro em função de tipos de substrato.

Tipo de Substrato	Cultivar	
	Mineiro	Pioneiro
Líquido	2,39 Ba	3,13 Ba
Ágar	3,73 Ba	3,46 Ba
Phytigel	9,40 Aa	9,46 Aa
CV (%)	37,80	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna (Teste de Scott e Knott, 5%) e minúscula na linha (Teste de F, 5%), diferem entre si.

5.2.3 Altura dos explantes

As alturas dos explantes principais das cvs. Mineiro e Pioneiro apresentaram comportamentos semelhantes ($P < 0,05$), sendo que os tipos de substratos não apresentaram diferenças significativas entre si. Nota-se também que não houve diferença entre as cultivares (Tabela 8) em cada tipo de substrato. Em geral, os fatores cultivares e tipos de substratos não influenciaram, de modo significativo, na altura do explante principal. Pode-se observar, ainda, que os explantes da cv. Mineiro cresceram, em média, 1,8 cm, e os da cv. Pioneiro cresceram, em média, 1,54 cm, em 49 dias, o que é muito pouco, pois material foi inoculado com 3,0 cm. Este fato foi decorrente da presença da citocinina BAP nas concentrações de 4,44 e 8,88 μm , para as cvs. Mineiro e Pioneiro,

respectivamente. A concentração utilizada foi determinada em estudo anterior, no qual estas concentrações foram consideradas ideais para se obter um maior rendimento de brotações para cada uma das cultivares.

As citocininas pertencem ao grupo de fitorreguladores que atua na quebra da dominância apical, inibindo o crescimento apical, e estimula a divisão celular promovendo a proliferação de brotações laterais, o que justifica o pequeno crescimento em altura dos explantes.

TABELA 8. Altura do explante principal (cm) das cvs. Mineiro e Pioneiro em função de tipos de substrato.

Tipo de Substrato	Cultivar	
	Mineiro	Pioneiro
Líquido	4,72 Aa	4,73 Aa
Ágar	4,95 Aa	4,22 Aa
Phytigel	4,72 Aa	4,68 Aa
CV (%)	14,86	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna (Teste de Scott e Knott, 5%) e minúscula na linha (Teste de F, 5%), diferem entre si.

Os propágulos obtidos ao final desse processo apresentaram excelente qualidade fitossanitária e vigor, com pegamento de 100% do material ao serem transferidos do laboratório para a aclimatização, mesmo quando eram desprovidos de raízes.

6 CONCLUSÕES

1º Fase:

1. As diferentes concentrações do fitorregulador BAP foram eficientes em produzir brotações, uma vez que, na sua ausência, a formação de brotos laterais é nula. Os maiores números de brotos/explante secundário foram conseguidos no meio sólido. Na cv. Mineiro, os resultados foram de 9,4 em 6,14 μM ; para a cv. Taiwan A-147, de 9,5 em 7,21 μM ; e para cv. Pioneiro, de 8,7 em 6,2 μM de BAP.

2. Houve enraizamento mesmo com a presença de BAP, sendo o maior número de raízes obtido também em meio de cultura sólido. Para a cv. Mineiro, obtiveram-se números de 5,68 em 4,30 μM ; para a cv. Taiwan A-147, de 3,65 em 4,44 μM ; e para a cv. Pioneiro, de 6,91 em 4,02 μM de BAP.

3. O meio de cultura isento de fitorregulador proporcionou as maiores alturas de explantes das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro, nos meios de cultura sólido e líquido.

2º Fase:

1. Os maiores números de brotações foram registrados em meio de cultura suplementado com 0,7% de ágar e 0,2% de phytigel, com 9,13 e 11,33 e 10,73 e 9,20 brotos/explante, respectivamente, para a cv. Mineiro na concentração de 4,44 μM e para a cv. Pioneiro na concentração de 8,88 μM de BAP

2. Os maiores números de raízes por explante das cvs. Mineiro e Pioneiro foram obtidos nos meios de cultura suplementados com phytigel, para os quais se obtiveram 9,40 raízes para a cv. Mineiro, na concentração de 4,44 μM ; e 9,46 para a cv. Pioneiro, na concentração de 8,88 μM de BAP.

3. As alturas dos explantes não foram afetadas pelos tipos de substrato e nem pelas cultivares, variando de 4,72 a 4,95 cm em 4,44 μ M na cv. Mineiro e 4,22 a 4,73 cm em 8,88 μ M de BAP ns cv. Pioneiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARTECA, R.N. **Plant growth substances: principles and applications**. New York: Chapman & Hall 1996. 332p.
- CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. IN: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPH, 1990. p.37-70.
- CERQUEIRA, E.S. **Propagação e calogênese *in vitro* em erva-de-touro (*Tridax procumbens* L.), uma planta medicinal**. Lavras:UFLA, 1999. 81p. (Dissertação de mestrado em Fitotecnia)
- CRONAUER, S.S.; KRIKORIAN, A.D. Aseptic multiplication of banana from excised floral apices. *HortScience*, Alexandria, v.20, n.4, p.770-771, Apr. 1985.
- EINSERT, J.W. Woody plant micropropagation with cytokinins. IN: BAJAJ, Y.P.S. **Biotechnology in agriculture and forestry 17: High-tech and micropropagation I**. Berlin: Springer-Verlag, 1991. p.190-201.
- FERREIRA, D.F. Programa de análise estatística SISVAR - 2000.
- FINCH, R.P.; BASET, A.; SLAMET, I.H.; COCKING, E.C. *In vitro* shoot culture of wild oryzae and other grass species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Dordrecht, v.30, n.1, p.31-39, 1992.
- GEORGE, F. **Plant propagation by tissue culture: the technology**. England: Exegetics, 1993. 574p.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA - CNPH, 1990. p.99-110.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. IN: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação**

- genética de plantas. Brasília: EMBRAPA - SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. v.1, p.138-260.
- JACQUES, A.V.A. Caracteres morfofisiológicos e suas implicações com o manejo. IN: CARVALHO, M.M.; ALVIM, M.J.; XAVIER, D.F.; CARVALHO, L.D.A. **Capim-elefante: produção e utilização**. Brasília-SPI/ Juiz de Fora: EMBRAPA/CNPGL, 1997. 2ed., p.31-47.
- KARTHA, K.K.; GAMBORG, O.L. Elimination of cassava mosaic disease by meristem culture. *Phytopathology*, St Paul, v.65, n.7, p.826-828, July 1975.
- KYTE, L.; KLEYN, J. **Plants from test tubes: an introduction to micropropagation**. Hong Kong: Timber Press, 3ed., 1996. 240 p.
- LEE, N.; WETZSTEIN, H.Y.; SOMMER, H.E. The effect of agar vs. liquid medium on rooting in tissue-cultured sweetgum. *HortScience*, Alexandria, v.21, n.2, p.317-318, Feb 1986.
- LLOYD, G.B.; McCOWN, B.H. Commercially feasible micropropagation of mountain (*Kalmia latifolia*) by use of shoot tip culture. *Proceedings of the international Plant Propagators Society*, Boulder, v.30, p.421-437.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassay with *tobacco* tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.15, n.3, p.473-497, Mar 1962.
- MANTELL, S.H.; MATTHEWS, J.A.; MCKEE, R.A. **Princípios de biotecnologia em plantas: uma introdução à engenharia genética em plantas**. Tradutores: AZEVEDO, J.L.; MARGARIDA, L.R.A.; VELLO, P.; VELLO, N.A. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1994. 344p.
- NANNETTI, D.C. **Utilização da cultura de tecidos vegetais na micropropagação de *Heliconia* sp.** Lavras: ESAL, 1994. 106p.(Dissertação de Mestrado em Fitotecnia).
- PASQUAL, M.; HOFFMANN, A.; RAMOS, J.D. **Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações - introdução: fundamentos básicos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 159p.

PASSOS, L.P.; KATTERMAN, F. Produção de calo embriogênico em capim-elefante, em resposta a diferentes cultivos, explantes e reguladores de crescimento. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.23, n.5, p.743-753, set/out 1994.

PETERSEN, R.G. *Agricultural fields experiments: design and analysis*. New York: Marcel Dekker, 1994. 409p.

PIERIK, R.L.M. **Cultivo in vitro de las plantas superiores**. Madrid: Mundi-Prensa, 1990. 326p.

TAIZ, L. ZIEGER, E. **Plant physiology**. California: Benjamin/Cummings. 1991. p.398-425, 452-472.

VIDIGAL, M.C.; PASSOS, L.P.; SILVA, J.L.O. Conservação *in vitro* do germoplasma de capim-elefante por meio da micropropagação de meristemas axilares. **Ciência Rural**. Santa Maria, v.28, n.3, p.379-385, jul/set 1998.

WANG, P.J.; CHARLES, A. Micropropagation through meristem culture. IN: BAJAJ, Y.P.S. **Biotechnology in agriculture and forestry 17: High-tech and micropropagation I**. Berlin: Springer-Verlag, 1991. p.32-52.

ZANETTE, F.; PAILO, W.N.; MORAES, A. Obtenção de mudas de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. var. napier) por cultura de meristemas. **Revista do Setor de Ciências Agrárias**, Curitiba, v.10, n. 1-2, p.175-177, 1988.

ZHANG, Z.M.; DAVIES JR., F.T. *In vitro* culture of Crape Myrtle. **HortScience**, Alexandria, v.21, n.4, p.1044-1045, Apr 1986.



CAPÍTULO 3

Uso da termoterapia e cultura de tecidos no revigoração de características forrageiras do capim-elefante

1 RESUMO

KARASAWA, Marines Marli Gniech. **Uso da termoterapia e cultura de tecidos no revigoração de características forrageiras de capim-elefante.** Lavras: UFLA, 2001. 135p. (Dissertação - Mestrado em Zootecnia)*

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Mediciniais do Departamento de Agricultura e em vasos de 10 L de solo cada, na casa-de-vegetação do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, onde se avaliou a altura e número de perfilhos e folhas por perfilho, produção de MS da folha e do caule, proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) em capim-elefante, cultivares Mineiro, Pioneiro e Taiwan A-147, durante três cortes compreendendo 180 dias. Em geral, os métodos de obtenção de mudas termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos exerceram influência benéfica no crescimento, produção de matéria seca (MS) e qualidade da forragem das cultivares de capim-elefante estudadas, significando a eficácia destes métodos de limpeza clonal. A cultivar Mineiro de capim-elefante, de uso relativamente antigo, mostrou-se mais sensível à limpeza clonal do que as mais recentes, Taiwan A-147 e Pioneiro, indicando que o processo de repicagens pode alterar o comportamento agrônomo e nutricional das cultivares por efeito de contaminações por microorganismos, mostrando a necessidade deste tipo de estudo e posterior aplicação prática em cultivares velhas propagadas vegetativamente.

* Comitê Orientador: José Cardoso Pinto - UFLA (Orientador), Antônio Vander Pereira - EMBRAPA/CNPGL, José Eduardo Brasil Pereira Pinto - UFLA.

2 ABSTRACT

KARASAWA, Marines Marli Gniech. Use of thermotherapy and tissue culture na regeneration of forage characteristics in the elephantgrass. LAVRAS: UFLA, 2001. 135p. (Dissertation - Master Program in Animal Science)*

An experiment was carried out at the Tissue Culture and Medicinal Plant Laboratory of the Agriculture Department and, afterwards, in pots of 10 liter of soil each, in the greenhouse of the Animal Science Department of the Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, being the cultivars "Mineiro", "Taiwan A-147" and "Pioneiro" (*Pennisetum purpureum* Schum.) submitted to three methods of propagation: thermoterapy plus tissue culture, just tissue culture, and ripe stem (traditional method of propagation). It was measured the height of tiller, number of tiller, number of leaves per tiller; dry matter yield, crude protein, the ADF and NDF concentrations, and contents of phosphorus (P), potassium (K), calcium (Ca), magnesium (Mg) and sulfur (S), in three cuttings for a periond of 180 days. In general, the methods for obtaining cuttings termoterapy plus tissue culture and just tissue culture presented a beneficial influence upon growth, dry matter yield and forage quality of the forages of the elephantgrass cultivars studied, meaning the efficacy of these clonal cleaning methods. The elephantgrass cultivar "Mineiro", of relatively ancient use, proved more sensitive to the clonal cleaning than those the more recent, Taiwan A-147 and Pioneiro, pointing out that the transplanting process may alter the agronomic and nutritional value of the cultivars due to microorganism contamination. These results show the need for that sort of study and further practical application on old vegetativelvy propagated cultivars.

* Guidance Committee: José Cardoso Pinto - UFLA (Major Professor), Antônio Vander Pereira - EMBRAPA/CNPGL, José Eduardo Brasil Pereira Pinto - UFLA.

3 INTRODUÇÃO

O aumento da demanda mundial por produtos alimentícios como a carne e o leite mostra não só a necessidade de produzir estes produtos como também a necessidade de obter alta qualidade e quantidade de forragem para disponibilizar aos animais.

Aliada ao problema da qualidade e quantidade de forragem produzida, existe a necessidade de se conhecer a dinâmica da emissão de folhas e perfilhos das gramíneas forrageiras durante o seu crescimento, para que se possam obter produções máximas e contínuas por unidade de área. De acordo com Matthew et al. (1999), é de extrema importância o estudo da dinâmica do crescimento e morfologia do dossel foliar das espécies forrageiras das pastagens, tornando possível a otimização do uso da energia luminosa e da água disponível. Por outro lado, Passos (1999), referindo-se ao capim-clefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), afirmou que a emissão de perfilhos basais está diretamente associada com a biomassa de reserva presente na planta, obtendo-se maiores valores em altura de planta e número de perfilhos quando a planta é cortada após os 90 dias de idade.

Ao estudar cultivares de *Panicum maximum* Jacq. cultivados em vasos, Gomide (1997) verificou que o número de perfilhos das cvs. Tanzânia I e Mombaça aumentou até a terceira semana. A cv. Tanzânia I apresentou o perfilhamento mais intenso, atingindo 15 perfilhos por planta, a cv. Mombaça obteve o menor número, apenas 10 perfilhos por planta, e as taxas de aparecimento de folhas foram menores no crescimento da rebrota do que no de estabelecimento. Já Nascimento (1997), estudando o capim-colonião (*P. maximum*) e o capim-jaraguá (*Hyparrhenia rufa*), constatou que o crescimento dos perfilhos aumentava com a sucessão de crescimentos e com o avanço da idade, mas em capim-gordura (*Melinis minutiflora*) o crescimento somente

aumentou com o avanço da idade. O mesmo autor verificou, ainda, que o perfilhamento ocorreu mais intensamente entre o crescimento inicial e a primeira rebrota do que entre a primeira e a segunda rebrotas. Por outro lado, Colozza (1998), trabalhando com as cvs. Aruana e Mombaça de *P. maximum* observou que as mesmas produziram mais perfilhos no segundo corte em relação ao primeiro; e Pinto (1993) verificou que o capim-andropogon (*Andropogon gayanus*) apresentou perfilhamento contínuo nos 70 dias de avaliação, com um número relativamente elevado de perfilhos por touceira.

Estudando o comportamento de *P. maximum* cv. Tanzânia consorciado com o milheto (*Pennisetum glaucum*) e em cultivo puro, Maia (1998) verificou que a cv. Tanzânia I apresentou a maior altura quando em cultivo puro, de 1,38 m; e atingiu apenas 0,94 m quando consorciada; e ainda que a densidade dos perfilhos diminuiu à medida que diminuiu a densidade de semeadura e aumentou, conforme foi aumentada, a frequência de corte. Por outro lado, Castro (1996) verificou que o sombreamento proporcionou menor perfilhamento aéreo e maior altura de planta de *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens* *P. maximum* e *Setaria sphacelata*.

A folha é o local onde ocorre a maior concentração de nutrientes, sendo também a fração mais digestível. Por isso, em nutrição animal existe o maior interesse por forrageiras que apresentam maior proporção de folha em relação ao caule. Pinto (1993) constatou que o capim-guiné (*P. maximum*) apresentou maior quantidade de tecido foliar e que o capim-setária apresentou predominância de caule. Santos et al. (1994) verificaram que as relações folha/caule médias, em capim-elefante, dos meses de julho e novembro, foram de 0,76 e 0,82, respectivamente, nas cvs. Mineiro e Taiwan A-147. Por outro lado, Santos et al. (1989), avaliando cultivares de capim-elefante, obtiveram relações folha/caule variando de 1,14 até 1,41.

A produção de MS é um fator de suma importância pois, praticamente, é ela que determina a produção animal por área. Ezequiel e Favoreto (2000) obtiveram maiores produções de MS de capim-colonião (*P. maximum*) à medida que foi diminuída a altura de corte. Já Castro (1996) obteve menores produções de MS à sombra, mesmo sendo a produção de matéria verde maior. Pode-se verificar que o manejo da altura de corte, o sombreamento, assim como diversos outros fatores, podem influenciar a produção de MS das plantas forrageiras. Pinto (1993), estudando diferentes doses de N em capim-andropogon, capim-guiné e capim-setária, verificou que este último apresentou maior taxa de produção de MS.

O teor de PB é muito importante para a nutrição animal. Segundo Ezequiel e Favoreto (2000), este pode ser afetado pelo manejo da altura e da frequência de corte do capim-colonião e os seus maiores teores são encontrados em plantas cortadas com maior frequência e ao nível do solo. A idade da planta por ocasião do corte e a constituição genética também podem influenciar. Silveira, Tosi e Faria (1974), analisando o teor de PB do capim-elefante cv. Napier, aos 45 dias de idade, encontraram 14,9%; e Vilela et al. (1998) determinaram 13,4% na cv. Paraíso, aos 70 dias de idade. Ainda, conforme Chandler (1973), o nível de PB ainda pode ser influenciado pelo nível de adubação. Resultados obtidos por este autor mostram que o aumento da dose de N de 675 para 2025 kg/ha/ano resulta no aumento do teor de PB na MS de 8,1 para 15,9%. Skerman e Riveros (1992) relatam que o aumento do grau de maturação da planta proporciona uma diminuição no teor de PB em função do aumento da proporção de caule. O teor de FDN de capim-elefante cv. Cameroon submetido à vedação de janeiro a março, segundo Andrade et al. (1990), foi de 70,87%; e Fonseca et al. (1998), utilizando três dias de ocupação, em pastejo rotativo, encontraram valores de FDN de 69,9 e 78,2%, respectivamente, na folha e no caule de capim-elefante.

Os valores de FDA correspondem à parte indigerível da planta. Portanto, é de interesse para a nutrição animal que estes valores sejam os menores possíveis. Silveira, Tosi e Faria (1976) obtiveram valores de FDA, em plantas de capim-elefante, de 29,8 e 37,7%, respectivamente, aos 45 e 75 dias de idade; já Santos, Silva e Queiroz Filho (1999), analisando o capim-elefante, encontraram teor de FDA de 42,72%.

Os teores de minerais presentes na planta indicam o potencial nutritivo mineral que a mesma possui para a nutrição animal. Próspero e Peixoto (1972), analisando capim-elefante aos 45 dias de idade, encontraram 0,21% de P; e Guerrero, Fassbender e Blyndestein (1970a), estudando doses crescentes de N, encontraram teores de P variando de 0,32 a 0,38% na MS do capim-elefante. Os teores de K, Ca, Mg e S encontrados por Próspero e Peixoto (1972), aos 45 dias de idade do capim-elefante, foram de 5,07; 0,14; 0,10 e 0,15%, respectivamente.

Os objetivos deste experimento foram avaliar o rendimento das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro de capim-elefante, cujas mudas foram obtidas por termoterapia + cultura de tecidos, cultura de tecidos e colmo maduro, em casa de vegetação.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Localização do experimento

O experimento foi conduzido em vasos, em casa-de-vegetação do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, no município de Lavras - MG. Lavras está localizada a 21°14'30" de latitude sul e 45°00'10" de longitude oeste de Greenwich, a uma altitude de 918m. O clima da região é do tipo Cwb, com verão chuvoso e inverno seco.

4.2 Material experimental

O material experimental constituiu-se de mudas de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), cultivares Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro, procedentes do Banco Ativo de Germoplasma de Capim-elefante (BAGCE) da Embrapa Gado de Leite. As mudas foram obtidas através dos métodos de termoterapia + cultura de tecidos; cultura de tecidos e colmos maduros (não tratados, com apenas uma gema e de 1cm no máximo, sendo esta fração de colmo fracionada ao meio longitudinalmente, observando-se a permanência de pelo menos 3 protuberâncias radiculares na fração do colmo que continha a gema), no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, exceto o método de termoterapia, que foi realizado na EMBRAPA-CNPGL, Juiz de Fora - MG.

4.3 Termoterapia e Cultura de Tecidos

Os colmos obtidos no BAGCE foram fracionados em estacas com 3 a 4 gemas, plantadas em sacos plásticos com 5 litros de solo cada, previamente preparados e colocados em casa-de-vegetação da Embrapa Gado de Leite, na segunda quinzena de julho de 1999, e conduzidos até suas brotações atingirem 20 cm. Uma vez atingida a altura mínima, foi iniciado o tratamento da termoterapia na casa de vegetação da Embrapa Gado de Leite, com temperaturas variando de 30 e 45°C (noite e dia, respectivamente). O tratamento da termoterapia foi realizado por um período de 20 dias, e após esse período foram coletados os 20 cm superiores do caule, contendo o meristema apical, e estes foram preparados para a desinfecção.

Após desinfestados, através da agitação por 20 minutos em hipoclorito de sódio 1%, foi procedida a retirada do meristema, com ajuda de microscópio estereoscópico, que foi inoculado em meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962), acrescido de vitaminas WPM (Lloyd e McCown, 1980), 3% de sacarose e suplementado ou não com 0,7% de ágar. Este material foi incubado sob condições de iluminação de 2000 lux e temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, e após crescido foi multiplicado, utilizando-se o fitorregulador BAP, aclimatizado e transplantado para a casa de vegetação.

4.4 Aclimatização

A aclimatização consistiu da retirada da plântula do tubo de ensaio, no laboratório, e o seu plantio em copos plástico de 300 ml contendo o substrato Plantimax. As plântulas foram submetidas a um ambiente com alta umidade relativa do ar, conseguida através da nebulização constante de água por meio de

microaspersores e ventilação forçada para a manutenção de temperatura do ar além do sombreamento de 50%, durante 30 dias.

Após esse período, o material foi transplantado para a casa-de-vegetação, na qual foram procedidas avaliações a cada 60 dias de idade.

4.5 Caracterização, coleta e preparo do solo

O solo utilizado, procedente de Coronel Pacheco-MG, classificado como latossolo vermelho-amarelo, apresentou as seguintes características químicas: pH em água (1:2,5) = 5,7; P e K (Mehlich I) = 18,0 e 69,0 mg/dm³; Ca, Mg e Al = 2,6; 1,0 e 0,0 cmolc/dm³, respectivamente; V = 59,2%. O solo foi seco, peneirado e adubado com 16,06 g de cloreto de potássio; 24,45 g de superfosfato simples; 3,0 g de uréia; 3,0 g de sulfato de magnésio; 0,17 g de ácido bórico; 0,06 g de sulfato de cobre e 0,01 g de sulfato de zinco/10 kg de solo

4.6 Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com seis repetições, e os tratamentos arranjados em esquema de parcelas subdivididas (Petersen, 1994; Banzato e Kronka, 1995), sendo constituídos por três cultivares de capim-elefante (Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro) e três métodos de obtenção de mudas (termoterapia + cultura de tecidos, cultura de tecidos e colmo maduro). Nas parcelas foram casualizadas as cultivares de capim-elefante e, nas subparcelas, os métodos de obtenção de mudas.

As análises estatísticas das características avaliadas foram realizadas de acordo com o esquema apresentado na Tabela 9, de acordo com os modelos tradicionais de análise de variância para experimentos em parcelas subdivididas

(Petersen, 1994; Banzato e Kronka, 1995). Quando houve efeito significativo de cultivares, método ou da interação cultivar x método, usou-se o teste de Scott e Knott 5% para comparar as médias dos tratamentos.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o pacote computacional SISVAR (Sistema de análise de variância) (Ferreira, 2000).

TABELA 9. Esquema da análise de variância do experimento conduzido na casa de vegetação.

F V	GL
Blocos	5
Cultivares (CV)	2
Erro A	10
Métodos	2
CV X M	4
Erro B	30
TOTAL	53

O modelo estatístico utilizado foi o seguinte:

$$y_{ijk} = \mu + c_i + b_j + e_{ij} + m_k + c_{mik} + e_{ijk},$$

sendo:

y_{ijk} = valor observado na cultivar i para o método k , no bloco j ;

μ = média geral;

c_i = efeito da cultivar i da parcela, com $i = 1,2,3$;

b_j = efeito do bloco j , com $j = 1,2,3,4,5,6$;

e_{ij} = erro experimental associado à parcela;

m_k = efeito do método de obtenção de mudas k , com $k = 1,2,3$;

c_{mik} = efeito da interação da cultivar i com o método de obtenção de mudas k .

e_{ijk} = erro experimental associado à subparcela.

4.7 Plantio e condução do experimento

Após a aclimação das mudas por 30 dias, em casa-de-vegetação do Departamento de Agricultura, estas foram transferidas para a casa-de-vegetação do Departamento de Zootecnia onde foram plantadas, uma por vaso, em vasos plástico de cor preta, contendo 10 kg de solo previamente seco, peneirado e adubado, em 03/04/200.

Procedeu-se a irrigação das plantas, utilizando-se aproximadamente 400 ml de água/vaso/dia.

A cada 30 dias foram feitas aplicações de N, alternando-se as fontes amônio e sulfato.

As temperaturas máxima e mínima, quinzenais, registradas no interior da casa-de-vegetação durante o período experimental, são mostradas na Tabela 10.

TABELA 10. Temperaturas máximas e mínimas, em °C, quinzenais, registradas no período experimental. Lavras, abril - agosto/2000.

Período	T° mínima	T° máxima
15 - 30/04	15,5	35,8
01 - 15/05	14,3	34,8
16 - 31/05	11,9	33,6
01 - 15/06	11,7	40,3
16 - 30/06	10,8	38,7
01 - 15/07	12,6	39,3
16 - 31/07	09,8	37,7
01 - 15/08	11,2	39,4
16 - 31/08	13,9	39,4

4.8 Características avaliadas

Foram realizados três cortes espaçados de 60 dias. Para determinar o comportamento de cada cultivar de capim-elefante submetida aos tratamentos aplicados, foram feitas as seguintes determinações, por ocasião de cada corte:

- a) Número de perfilhos por touceira;
- b) Altura de planta (perfilho);
- c) Produção de matéria seca (MS) de folha;
- d) Produção de matéria seca (MS) de caule;
- e) Relação folha/caule;
- f) Teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e os minerais P, K, Ca, Mg e S na MS;

Os cortes foram feitos a 5,0 cm do solo, utilizando-se faca para cortar os colmos e tesoura para separar as fração folha do colmo, a cada 60 dias, sendo o primeiro corte, considerando-se os dias de aclimatação, efetuado em 03/05/2000. A fração colmo compreendia o colmo mais as bainhas de folha.

A determinação do número de perfilhos foi feita através de contagem, enquanto a altura do perfilho foi determinada através de medições, que foram procedidas medindo-se do nível do solo até a lígula da última folha expandida.

Para determinar o teor de MS da forragem verde, foi utilizada a técnica gravimétrica com o emprego de calor, utilizando-se duas fases: pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 60°C, durante 72 horas, e secagem definitiva em estufa a 105°C, por 12 horas (A.O.A.C., 1990).

Os teores de FDN e FDA foram determinados conforme o método de Van Soest (A.O.A.C., 1990) e o teor de PB também foi determinado conforme a técnica indicada pela A.O.A.C. (1990).

A MS para determinação dos minerais P, K, Ca, Mg e S foi submetida à digestão nitro-perclórica, sendo os teores de Ca e Mg determinados por espectrofotometria de absorção atômica, o P por colorimetria, o K por fotometria de chama (Malavolta, Vitti e Oliveira, 1989) e o S por turbidimetria (Blanchar, Rehm e Caldewell, 1965).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Primeiro corte (realizado em 03/05/2000)

5.1.1 Altura e número de perfilhos e de folhas por perfilho

No primeiro corte, as cvs. Mineiro e Taiwan A-147 apresentaram valores semelhantes de altura de perfilhos, para os três métodos de obtenção de mudas, e inferiores ao da cv Pioneiro, cuja maior altura foi proporcionada pelo método da cultura de tecidos, em comparação aos outros dois métodos (Tabela 11). A cv. Pioneiro alongou o caule rapidamente e floresceu precocemente, apresentando, por ocasião deste primeiro corte, perfilhos já florescidos.

Não houve interação método x cultivar para a variável altura de perfilho.

Maia (1998), ao estudar o comportamento de *Panicum maximum* cv. Tanzânia I, constatou que a mesma cresce mais quando em cultivo puro, 1,38 m, do que quando consorciada com milho, 0,94 m. Passos (1999) afirma que a maior altura de capim-elefante foi conseguida em cortes após 90 dias de idade e que esta varia em função da biomassa de reserva presente.

TABELA 11. Altura de perfilho (cm) das cvs Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao primeiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. tecidos	16,17 Ab	17,50 Ab	51,17 Ba
Cultura de tecidos	20,50 Ab	22,67 Ab	62,50 Aa
Tradicional (Colmo maduro)	15,00 Ab	19,00 Ab	55,83 Ba
CV 1 (%)		23,36	
CV 2 (%)		22,50	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

Os números de folhas por perfilho das três cultivares de capim-elefante não diferiram em resposta aos três métodos de obtenção de mudas (Tabela 12). Já quando se comparam as cultivares em cada método de obtenção de mudas, verifica-se que o número de folhas/perfilho da cv. Pioneiro foi superior ao das demais cultivares, nos três métodos testados. As cvs. Mineiro e Taiwan A-147 não diferiram frente aos métodos, exceto no tradicional (colmo maduro), em que a cv Taiwan A-147 superou a Mineiro (Tabela 12).

Teixeira (1998), estudando a morfologia do crescimento de *P. maximum* cv. Tobiata, verificou que o número médio de folhas expandidas/perfilho foi de 1,55; 2,47; 3,59; 3,26 e 3,59, respectivamente, nos meses de dezembro, janeiro, fevereiro, março e abril.

TABELA 12. Número de folhas por perfilho das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao primeiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	7,50 Ab	8,00 Ab	11,83 Aa
Cultura de Tecidos	8,33 Ab	9,00 Ab	13,00 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	7,17 Ac	9,00 Ab	12,00 Aa
CV 1 (%)		14,14	
CV 2 (%)		11,84	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

Comparando os métodos em cada cultivar, verificou-se que as densidades dos perfilhos basais mostraram-se semelhantes nos diferentes métodos de obtenção de mudas estudadas, conforme se verifica na Tabela 13.

A comparação das cultivares dentro de cada método de obtenção de mudas revelou diferenças significativas para as densidades de perfilhos. A cv. Pioneiro apresentou número de perfilhos superior ao das demais cultivares nos

métodos termoterapia + cultura de tecidos e tradicional. Já no método cultura de tecidos, o número de perfilhos foi semelhante ao da cv. Taiwan A-147 e superior ao da cv. Mineiro.

De acordo com Passos (1999), a densidade de perfilhos de capim-elefante varia em função da reserva que a planta possui e em função do período de crescimento, sendo o número máximo obtido quando ela é cortada após os 90 dias de idade. Por outro lado, Maia (1998) verificou que a densidade de perfilhos de capim-tanzânia diminuiu conforme foi diminuída a densidade de semeadura; e Beltrano et al. (1999) observou hábito de crescimento e emissão de perfilhos diferenciados em *Paspalum vaginatum* conforme foi alterada a fonte de N. Já Castro (1996) observou que o sombreamento reduz o perfilhamento de *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens*, *Panicum maximum* e *Setaria sphacelata*.

TABELA 13. Densidade de perfilhos (nº/vaso) das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao primeiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	15,67 Ab	17,33 Ab	22,67 Aa
Cultura de Tecidos	15,00 Ab	19,50 Aa	22,67 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	12,83 Ab	16,00 Ab	25,67 Aa
CV 1 (%)		29,99	
CV 2 (%)		20,24	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

5.1.2 Produção de matéria seca

Apenas a produção de MS de folhas da cultivar Mineiro foi influenciada significativamente pelos métodos de obtenção de mudas, sendo que os métodos

termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos proporcionaram rendimentos iguais e superiores ao método tradicional. As três cultivares apresentaram produções de MS de folhas equivalentes dentro de cada método de obtenção de mudas, exceto no tradicional (colmo maduro), em que a cv. Taiwan A-147 superou as demais (Tabela 14).

Pinto (1993) obteve maior produção de folias em relação ao caule de capim-guiné, comparado ao capim-andropogon e ao capim-setária, o que resultou num maior peso seco da parte aérea; e Ezequiel e Favoreto (2000) obtiveram maior produção de MS de capim-colonião à medida que foi diminuída a altura de corte; já Castro (1996) verificou que o rendimento de MS de gramíneas tropicais diminuía com o sombreamento das plantas.

TABELA 14. Produção de matéria seca (MS) de folha (g/vaso) das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao primeiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	13,50 Aa	12,50 Aa	12,33 Aa
Cultura de Tecidos	13,33 Aa	12,83 Aa	11,67 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	9,00 Bb	12,33 Aa	10,50 Ab
CV 1 (%)		16,96	
CV 2 (%)		14,50	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

As produções de MS de caule da cv. Mineiro, nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos, foram semelhantes e superiores ao método tradicional (colmo maduro) (Tabela 15). A cv. Taiwan A-147 apresentou a maior produção de MS de caule no método cultura de tecidos, sendo que os métodos termoterapia + cultura de tecidos e tradicional proporcionaram

rendimentos semelhantes e inferiores. Os métodos de obtenção de mudas não influenciaram a produção de MS de caule da cv. Pioneiro.

A produção de MS de caule da cv. Pioneiro foi superior às demais, nos três métodos de obtenção de mudas. Por sua vez, a cv. Taiwan A-147 superou a cv. Mineiro no método tradicional (colmo maduro) (Tabela 15).

O rendimento de MS de capim-elefante submetido à adubação química encontrado por Aveiro, Siewerdt e Silveira Júnior (1991) foi de 13,78% para o primeiro corte, que ficou próximo dos valores das Tabelas 14 e 15.

TABELA 15. Produção de MS de caule (g/vaso) das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao primeiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	7,66 Ab	6,83 Bb	12,83 Aa
Cultura de Tecidos	8,33 Ab	9,00 Ab	12,17 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	5,50 Bc	7,67 Bb	11,50 Aa
CV 1 (%)	19,48		
CV 2 (%)	15,00		

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

5.1.3 Relação folha/caule

Os valores da relação folha/caule das cvs. Mineiro e Taiwan A-147, obtidos neste trabalho, mostram uma tendência de superioridade para o método de termoterapia + cultura de tecidos. No entanto, as diferenças não foram significativas (teste de Scott Knott 5%). Portanto, os métodos de obtenção de mudas não influenciaram a relação folha/caule das cultivares estudadas, exceto para a cv. Taiwan A-147, que apresentou menor relação folha/caule no método cultura de tecidos (Tabela 16). Ao se comparar a relação folha/caule dentro de

cada método de obtenção de mudas, verifica-se que as cvs. Mineiro e Taiwan A-147 apresentaram valores semelhantes e superiores aos da cv. Pioneiro, nos três métodos estudados (Tabela 16).

Santos et al.(1994), estudando o comportamento de clones de capim-elefante no campo, obtiveram relações folha/caule de 0,76 para a cv. Mineiro e de 0,82 para a cv. Taiwan A-148. Já Santana et al. (1989), avaliando cultivares de capim-elefante, encontraram valores de 0,53 a 0,58 de folha; e Pinto (1993) obteve maior relação folha/caule no capim-guiné e menor no capim-setária.

TABELA 16. Relação folha/caule das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao primeiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	1,79 Aa	1,85 Aa	0,97 Ab
Cultura de Tecidos	1,65 Aa	1,42 Ba	0,98 Ab
Tradicional (Colmo Maduro)	1,64 Aa	1,65 Aa	0,91 Ab
CV 1 (%)		12,18	
CV 2 (%)		17,01	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

5.1.4 Teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA)

A cv. Mineiro apresentou valores de PB semelhantes, nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos, e inferiores quando comparados ao método tradicional (colmo maduro). As concentrações de PB na MS das cvs. Taiwan A-147 e Pioneiro não foram influenciadas pelos métodos de obtenção de mudas (Tabela 17). Quando se comparam as cultivares dentro de cada método, verifica-se que a cv. Pioneiro apresentou os menores teores de PB, nos três métodos. Estes menores valores de PB são consequência da maior

proporção de caule desta cultivar (Tabela 15), a qual, sabidamente, é mais pobre em PB.

Silveira, Tosi e Faria (1974), estudando capim-elefante cv. Napier aos 45 dias de idade, encontraram teores de 14,9% de PB; e Vilela et al. (1998) determinaram 13,4% de PB na MS do capim-elefante Paraiso, aos 70 dias de idade, valores que são bastante inferiores aos encontrados no presente estudo; já Ezequiel e Favoreto (2000) obtiveram valores de PB mais altos quando as plantas de capim-colonião foram cortadas com maior frequência e ao nível do solo.

TABELA 17. Teor de PB (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao primeiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	20,66 Ba	21,21 Aa	18,36 Ab
Cultura de Tecidos	21,03 Ba	21,37 Aa	19,58 Ab
Tradicional (Colmo Maduro)	23,48 Aa	22,46 Aa	19,78 Ab
CV 1 (%)		4,61	
CV 2 (%)		6,06	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

Apenas na cv. Taiwan A-147, o teor de FDN na MS sofreu influência significativa dos diferentes métodos de obtenção de mudas aplicados, verificando-se a superioridade desta nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos, em relação ao método tradicional. Nas demais cultivares, não houve efeito significativo dos diferentes métodos sobre a concentração de FDN (Tabela 18). De modo análogo, quando se comparam as três cultivares dentro de cada método de obtenção de mudas, apenas no método tradicional a cv. Taiwan A-147 apresenta o menor teor de FDN na MS (75,15%) (Tabela 18).

Silva, Gomide e Queiroz (1994), utilizando pressão de pastejo severa (20-40 cm de altura do resíduo), obtiveram de FDN na MS do capim-elefante cv. Mott; já Andrade et al. (1990), estudando diferentes épocas de vedação do capim-elefante cv. Cameroon, obtiveram teor médio de FDN de 70,97% na MS, nas vedações de janeiro a março de 1985. De outra forma, Schank e Chynoweth (1993), analisando amostras da planta inteira de capim-elefante, encontraram teor médio de FDN de 77,53%; e Santos, Silva e Queiroz Filho (1999) encontraram, no capim-elefante cv. Roxo, teor médio de FDN de 76,4%, na época seca. Ainda, Fonseca et al. (1998), utilizando três dias de ocupação dos piquetes, em pastejo rotativo, encontraram teores de FDN de 69,9% na folha e 78,2% no colmo.

TABELA 18. Teor de FDN (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao primeiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	82,69 Aa	81,89 Aa	81,02 Aa
Cultura de Tecidos	81,51 Aa	79,63 Aa	81,19 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	84,88 Aa	75,15 Bb	82,74 Aa
CV 1 (%)		4,24	
CV 2 (%)		4,06	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

Os teores de FDA na MS das três cultivares não sofreram influência significativa dos diferentes métodos de obtenção de mudas aplicados (Tabela 19). Entretanto, verifica-se uma tendência de superioridade dos teores de FDA da cv. Pioneiro em relação às outras cultivares, nos métodos cultura de tecidos e tradicional, certamente em razão da sua menor relação folha/caule (Tabela 16), ou seja, maior proporção de caule (Tabela 15).

Os valores de FDA aqui relatados aproximam-se dos obtidos por Silveira, Tosi e Faria (1976), que encontraram valores de 29,8% aos 45 dias e 37,7% aos 75 dias de idade do capim-elefante. Fonseca et al. (1998), utilizando três dias de ocupação de piquetes, em pastejo rotativo, encontraram teores de FDA de 32,9% no colmo e 29,3% na folha. Já Santos, Silva e Queiroz Filho (1999) encontraram teores médios de FDA de 42,75% na MS do capim-elefante.

TABELA 19. Teor de FDA (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao primeiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	34,00 Aa	34,94 Aa	34,16 Aa
Cultura de Tecidos	34,28 Aa	33,23 Aa	37,41 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	35,23 Aa	34,12 Aa	38,34 Aa
CV 1 (%)		11,59	
CV 2 (%)		9,60	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

5.1.5 Teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S)

Conforme se observa na Tabela 20, os teores de P não foram influenciados pelos diferentes métodos de obtenção de mudas aplicados às cvs. Mineiro e Pioneiro. Já para a cv. Taiwan A-147, o método de termoterapia + cultura de tecidos proporcionou o maior teor de P; o método da cultura de tecidos, um valor intermediário, e o método tradicional, a menor concentração de P.

Na comparação das cultivares dentro de cada método de obtenção de mudas, verifica-se que no método tradicional (colmo maduro) os teores de P foram iguais; no método cultura de tecidos os teores de P das cvs. Taiwan A-147

e Pioneiro foram iguais e superiores ao da cv. Mineiro, e no método termoterapia + cultura de tecidos o teor de P da cv. Taiwan A-147 foi superior aos das cvs. Mineiro e Pioneiro, que foram iguais entre si (Tabela 20).

Guerrero, Fassbender e Blydenstein (1970b), estudando o efeito da interação N x P na composição mineral do capim-elefante, em cortes de 7 a 9 semanas, nas doses de 100 kg/ha/ano de N e P₂O₅, encontraram um teor de 0,40 % de P na MS da planta, e aumentando-se a dose de P₂O₅ para 200 kg/ha/ano, observou-se um aumento de 0,40 para 0,43 % no teor de P. Já Vélez-Santiago, Arroyo-Aguilú e Torres-Rivera (1982) encontraram valores médios de P de 0,34% em capim-elefante cv. Mercker, durante dois anos.

TABELA 20. Teor de P (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao primeiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	0,39 Ab	0,51 Aa	0,42 Ab
Cultura de Tecidos	0,40 Ab	0,46 Ba	0,43 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	0,42 Aa	0,39 Ca	0,41 Aa
CV 1 (%)		5,02	
CV 2 (%)		5,72	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si (P<0,05) pelo teste de Scott Knott.

Os métodos de obtenção de mudas não influenciaram o teor de K na MS das cvs. Mineiro e Taiwan A-147, enquanto na cv. Pioneiro o método de cultura de tecidos proporcionou a menor concentração de K, sendo que os valores dos outros dois métodos testados nesta cultivar foram iguais e superiores (Tabela 21).

A dose de K utilizada neste estudo foi três vezes superior à recomendada para vasos, o que justifica os resultados aqui obtidos, que foram de aproximadamente três vezes superiores aos encontrados por Próspero e Peixoto

(1972), aos 45 dias de idade do capim-elefante cv. Napier, sendo de 5,07% na MS; e por Pinto (1993), que registrou 4,86 e 5,17% de K na MS de capim-guiné e capim-setária, respectivamente, adubados com 100 mg/dm³ de N, em vasos, aos 7 dias de idade da rebrota.

TABELA 21. Teor de K (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao primeiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	13,62 Aa	14,27 Aa	13,41 Aa
Cultura de Tecidos	14,33 Aa	13,05 Ab	12,26 Bb
Tradicional (Colmo Maduro)	14,54 Aa	14,00 Aa	13,77 Aa
CV 1 (%)		11,21	
CV 2 (%)		7,21	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

Os teores de Ca na MS das cvs. Mineiro e Pioneiro foram significativamente influenciados pelos métodos de obtenção de mudas aplicados (Tabela 22). Os teores de Ca da cv. Mineiro nos métodos cultura de tecidos e tradicional foram semelhantes entre si e superiores ao do método termoterapia + cultura de tecidos. Já na cv. Pioneiro o efeito foi inverso, sendo o maior teor de Ca observado no método termoterapia + cultura de tecidos. Nos métodos cultura de tecidos e tradicional, os teores de Ca foram semelhantes e inferiores (Tabela 22).

Ao analisar os teores de Ca na MS das três cultivares de capim-elefante, dentro de cada método de obtenção de mudas, verifica-se que os métodos cultura de tecidos e tradicional influenciaram esta variável, de modo que foram registrados os menores valores na cv. Pioneiro, sendo estes iguais entre si e superiores nas demais cultivares estudadas (Tabela 22).

Lima et al. (1987) encontraram, na forragem de primeiro corte do capim-elefante cvs. Cameroon e Mineirão, 0,16 e 0,21% de Ca na MS. Cóser, Martins e Cruz Filho (1993) relataram teores de Ca variando de 0,14 a 0,22% na MS do capim-elefante. Próspero e Peixoto (1972), avaliando os teores de Ca do capim-elefante cv. Napier com 45 e 75 dias de idade, encontraram valores de 0,14 e 0,16%, respectivamente. Também, Jumba, Suttle e Wandiga (1996), analisando a composição mineral do capim-elefante cv. Napier, determinaram teores de Ca de 0,15% na MS. Os valores de Ca encontrados na literatura são próximos dos aqui relatados e discutidos.

TABELA 22. Teor de Ca (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao primeiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	0,13 Ba	0,13 Aa	0,14 Aa
Cultura de Tecidos	0,14 Aa	0,14 Aa	0,12 Bb
Tradicional (Colmo Maduro)	0,15 Aa	0,14 Aa	0,11 Bb
CV 1 (%)		6,38	
CV 2 (%)		6,84	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

Os teores de Mg na MS das cvs. Mineiro e Pioneiro não foram influenciados pelos métodos de obtenção de mudas; já na cv. Taiwan A-147, os teores de Mg foram iguais na plantas obtidas pelos métodos cultura de tecidos e tradicional, e superiores ao nível observado nas plantas obtidas por termoterapia + cultura de tecidos (Tabela 23).

Comparando os teores de Mg na MS das três cultivares dentro de cada método de obtenção de mudas, verifica-se a igualdade dos mesmos nas plantas obtidas no método termoterapia + cultura de tecidos. Nos métodos cultura de tecidos e tradicional (colmo maduro), a cv. Taiwan A-147 apresentou as maiores

concentrações de Mg, ao passo que as cvs. Mineiro e Pioneiro apresentaram valores iguais e inferiores (Tabela 23).

Próspero e Peixoto (1972) apresentaram teor médio de 0,10 % de Mg na MS do capim-elefante cv. Napier colhido aos 45 e 75 dias de idade, valor bastante inferior aos relatados no presente estudo; enquanto Velez-Santiago, Arroyo-Aguilú e Rivera (1982) obtiveram teores médios de Mg de 0,30% na MS do capim-elefante Mercker, em dois anos de estudo.

TABELA 23. Teor de Mg (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao primeiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	0,28 Aa	0,31 Ba	0,31 Aa
Cultura de Tecidos	0,30 Ab	0,34 Aa	0,30 Ab
Tradicional (Colmo Maduro)	0,32 Ab	0,36 Aa	0,32 Ab
CV 1 (%)		5,10	
CV 2 (%)		7,20	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

Os teores de S na MS das três cultivares estudadas não foram influenciados pelos métodos de obtenção de mudas aplicados. Avaliando as concentrações de S na MS das cultivares, em cada método de obtenção de mudas, constata-se que a cv. Pioneiro apresentou os menores valores, e as outras duas, valores iguais e superiores nos três métodos testados (Tabela 24). Provavelmente, tais valores são resultantes da maior proporção de caule daquela cultivar.

Próspero e Peixoto (1972) e Jumba, Suttle e Wandiga (1996) encontraram teor de S de 0,15% na MS do capim-elefante, cv. Napier, valor inferior, porém próximo aos do presente trabalho.

TABELA 24. Teor de S (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao primeiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	0,19 Aa	0,19 Aa	0,16 Ab
Cultura de Tecidos	0,19 Aa	0,19 Aa	0,17 Ab
Tradicional (Colmo Maduro)	0,19 Aa	0,19 Aa	0,17 Ab
CV 1 (%)	7,13		
CV 2 (%)	7,58		

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

5.2 Segundo corte (realizado em 03/07/2000)

5.2.1 Altura e número de perfilhos e de folhas por perfilho

Os métodos de obtenção de mudas estudados não influenciaram a altura de perfilhos das cvs. Mineiro e Pioneiro, ao passo que a cv. Taiwan A-147 apresentou maior altura no método tradicional (colmo maduro) (Tabela 25). Quando se estuda a altura de perfilho das cultivares dentro de cada método de obtenção de mudas, observa-se também que a cv. Taiwan A-147 apresentou o maior valor dessa variável, no método tradicional, exibindo as outras duas cultivares valores iguais e inferiores (Tabela 25).

Ao se comparar a altura dos perfilhos do primeiro corte (Tabela 11), verifica-se que as plantas da rebrota (segundo corte) das cvs. Mineiro e Taiwan A-147 ficaram mais altas, provavelmente em função do nível de reserva, conforme relatado por Passos (1999).

TABELA 25. Altura de perfilho (cm) das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao segundo corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	40,33 Aa	35,83 Ba	40,33 Aa
Cultura de Tecidos	34,17 Aa	39,67 Ba	38,67Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	39,17 Ab	53,50 Aa	41,50 Ab
CV 1 (%)		25,04	
CV 2 (%)		25,42	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

O número de folhas por perfilho de todas as três cultivares de capim-elefante, no segundo corte, não foi influenciado pelos métodos de obtenção de mudas testados (Tabela 26). Da mesma forma, não foi significativa a interação cultivar x método de obtenção de mudas. Verifica-se, nas Tabelas 12 e 26, que a cv. Mineiro manteve o número de folhas praticamente estável, a cv. Taiwan A-147 tendeu a aumentar e a cv. Pioneiro sofreu redução. O decréscimo na produção foliar da cv. Pioneiro provavelmente ocorreu em razão do intenso florescimento da mesma entre o primeiro e o segundo cortes.

Rodrigues et al. (1987) encontraram 10,4 a 18,5 folhas por perfilho de capim-elefante anão, 56 dias após o pastejo, sendo o maior valor observado em pressões de pastejo mais leves.

TABELA 26. Número de folhas por perfilho das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao segundo corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	7,33 Aa	7,33 Aa	8,00 Aa
Cultura de Tecidos	7,67 Aa	11,50 Aa	7,83 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	7,50 Aa	8,16 Aa	7,33 Aa
CV 1 (%)		56,72	
CV 2 (%)		45,52	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

Com relação ao número de perfilhos, verifica-se que os métodos de obtenção de mudas influenciaram de modo significativo apenas a cv. Mineiro, de modo que no método tradicional registrou-se o menor número de perfilhos por vaso (Tabela 27). Quando se avaliam os números de perfilhos das cultivares em cada método de obtenção de mudas, observa-se que a cv. Pioneiro perfilhou mais intensamente que as outras duas, que não diferiram entre si no método tradicional. Os outros dois métodos não influenciaram essa variável.

Lira et al. (1999), estudando a densidade de perfilhos em capim-elefante sob pastejo, encontraram valores de 29 a 39 perfilhos na primeira avaliação, valores estes bastante inferiores aos encontrados neste estudo, em vasos. Colozza (1998), estudando a emissão de perfilhos em *Panicum maximum* cv. Aruana, verificou que o número de perfilhos do mesmo foi superior em duas vezes no segundo corte, em relação ao primeiro; Maia (1998) obteve aumento no número de perfilhos do capim-tanzânia com o aumento da frequência dos cortes; e Pinto (1993) verificou perfilhamento contínuo em capim-andropogon, durante 70 dias, com um número de perfilhos relativamente elevado. Este comportamento do capim-andropogon também foi observado no capim-elefante deste estudo (Tabelas 13, 27 e 41). Já Nascimento (1997) constatou aumentos de

perfis em capim-colonião e capim-jaraguá com a sucessão de crescimentos e com o avanço da idade.

TABELA 27. Densidade de perfilhos (nº/vaso) das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao segundo corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	57,50 Aa	55,33 Aa	62,83 Aa
Cultura de Tecidos	52,33 Aa	58,00 Aa	63,50 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	41,33 Bb	49,00 Ab	60,67 Aa
CV 1 (%)	26,45		
CV 2 (%)	18,08		

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

5.2.2 Produção de matéria seca

Somente a MS produzida pelas folhas da cv. Taiwan A-147 foi afetada significativamente pela aplicação dos métodos de obtenção de mudas, sendo que o método tradicional (colmo maduro) proporcionou o menor rendimento e os outros dois, rendimentos iguais e superiores (Tabela 28). Os rendimentos de MS foliar de todas as cultivares não diferiram dentro de cada método de obtenção de mudas (Tabela 28).

A produção de MS foliar das cultivares estudadas aumentou sensivelmente do primeiro para o segundo corte (Tabelas 14 e 28), fato certamente decorrente do aumento expressivo dos perfilhos basais.

TABELA 28. Produção de MS de folha (g/vaso) das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao segundo corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	42,50 Aa	43,50 Aa	42,17 Aa
Cultura de Tecidos	43,67 Aa	41,33 Aa	40,17 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	36,17 Aa	32,33 Ba	37,50 Aa
CV 1 (%)		18,50	
CV 2 (%)		14,76	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

A produção de MS de caule da cv. Taiwan A-147 foi a única influenciada significativamente pelos métodos de obtenção de mudas, sendo esta inferior no método termoterapia + cultura de tecidos, e igual e superior nos outros dois métodos (Tabela 29). As cvs. Mineiro e Pioneiro exibem uma tendência de superioridade na produção de MS de caule no método termoterapia + cultura de tecidos, em comparação aos outros dois métodos.

Analisando o comportamento das cultivares dentro de cada método de obtenção de mudas, verifica-se que o método termoterapia + cultura de tecidos não influenciou o rendimento de MS do caule das cultivares, enquanto os outros dois métodos proporcionaram as maiores produções da cv. Taiwan A-147, apresentando as cvs. Mineiro e Pioneiro rendimentos iguais e inferiores (Tabela 29).

Ao comparar as produções de MS de caule do primeiro corte (Tabela 15) em relação ao segundo corte (Tabela 29), também se verifica um expressivo aumento, certamente decorrente do intenso perfilhamento e crescimento em altura observado.

TABELA 29. Produção de MS de caule (g/vaso) das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao segundo corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	37,83 Aa	34,33 Ba	42,50 Aa
Cultura de Tecidos	36,33 Ab	55,33 Aa	38,83 Ab
Tradicional (Colmo Maduro)	29,83 Ab	58,00 Aa	39,33 Ab
CV 1 (%)	27,33		
CV 2 (%)	19,44		

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

5.2.3 Relação folha/caule

Refletindo os rendimentos de MS de folha e de caule, a relação folha/caule da cv. Taiwan A-147 foi a única a ser influenciada pelos métodos de obtenção de mudas, ocorrendo o valor mais elevado no método da termoterapia + cultura de tecidos e o menor no método tradicional, sendo intermediário o da cultura de tecidos (Tabela 30).

Houve interação significativa entre os métodos de obtenção de mudas e as cultivares. Estudando-se o efeito de cada método sobre a relação folha/caule das cultivares, verifica-se que o método termoterapia + cultura de tecidos conferiu à cv. Taiwan A-147 maior valor, e às cvs. Mineiro e Pioneiro, valores iguais e inferiores. Para o método cultura de tecidos houve uma inversão, com as cvs. Mineiro e Pioneiro exibindo valores iguais e superiores à cv. Taiwan A-147. No método tradicional de obtenção de mudas, a cv. Mineiro apresentou a maior relação folha/caule, a cv. Pioneiro ocupou posição intermediária e a cv. Taiwan A-147 exibiu o menor valor (Tabela 30).

Admitindo-se uma relação folha/caule superior ou igual a 1,0 como sendo a mais indicada para a nutrição animal, conforme enfatizado por Pinto et al.

(1994), a cv. Taiwan A-147, nos métodos cultura de tecidos e tradicional, e a cv. Pioneiro, no método tradicional, em rebrota de 60 dias de idade, não satisfizeram essa condição.

TABELA 30. Relação folha/caule das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao segundo corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	1,15 Ab	1,33 Aa	1,01 Ab
Cultura de Tecidos	1,22 Aa	0,81 Bb	1,05 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	1,24 Aa	0,55 Cc	0,98 Ab
CV 1 (%)		26,39	
CV 2 (%)		16,75	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

5.2.4 Teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA)

Os teores de PB das três cultivares foram significativamente influenciados pelos métodos de obtenção de mudas. Na cv. Mineiro, os métodos cultura de tecidos e tradicional proporcionaram valores iguais entre si e superiores ao método termoterapia + cultura de tecidos. A cv. Taiwan A-147 apresentou os maiores teores de PB nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e tradicional, não diferindo entre si, e o menor valor foi obtido no método cultura de tecidos. Para a cv. Pioneiro, o método tradicional possibilitou a obtenção da maior concentração de PB, enquanto os métodos termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos proporcionaram valores iguais e inferiores (Tabela 31).

Houve interação significativa entre os métodos de obtenção de mudas e as cultivares estudadas. O método de obtenção de mudas termoterapia + cultura de

tecidos não influenciou a concentração de PB das cultivares estudadas. O método cultura de tecidos possibilitou o maior teor de PB na MS da cv. Mineiro e o menor, na cv. Taiwan A-147, ocupando a cv. Pioneiro posição intermediária. No método tradicional, a cv. Mineiro também apresentou teor de PB superior às cvs. Taiwan A-147 e Pioneiro, que exibiram valores iguais e inferiores (Tabela 31).

Ao analisar a Tabela 17, observa-se que houve um decréscimo acentuado do teor de PB do primeiro para o segundo corte. Este fato decorre de uma maior proporção da fração caule no segundo corte (Tabelas 15 e 29), que é mais pobre em PB, conforme enfatizado por Skerman e Riveros (1992).

Os teores de PB obtidos neste estudo concordam com os de Gonzalez (1985), que encontrou 12,93% de PB na MS do capim-elefante, cv. Roxo de Botucatu, colhido aos 56 dias de idade.

TABELA 31. Teor de PB (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao segundo corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	12,86 Ba	12,83 Aa	12,36 Ba
Cultura de Tecidos	14,44 Aa	10,67 Bc	12,23 Bb
Tradicional (Colmo Maduro)	14,60 Aa	13,05 Ab	13,51 Ab
CV 1 (%)	14,24		
CV 2 (%)	7,62		

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

A concentração de FDN foi influenciada pela aplicação dos métodos de obtenção de mudas apenas na cv. Pioneiro, de sorte que o método tradicional resultou no menor teor e os outros métodos proporcionaram valores iguais e superiores. De modo análogo, os teores de FDN das cultivares dentro de cada método de obtenção de mudas também foram iguais nos métodos termoterapia +

cultura de tecidos e cultura de tecidos. No método tradicional, as cvs. Mineiro e Taiwan A-147 apresentaram teores de FDN iguais e superiores à cv. Pioneiro (Tabela 32). Percebe-se uma tendência da forragem da cv. Taiwan A-147 desta rebrota ser mais fibrosa em razão da maior proporção de caule. Os valores de FDN deste estudo estão muito próximos dos obtidos por Schank e Chynoweth (1993) e também os de Santos, Silva e Queiroz Filho (1999), conforme já citado na discussão dos dados do primeiro corte (Tabela 18), iguais a 77,53 e 76,4% em cultivares de capim-elefante.

TABELA 32. Teor de FDN (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao segundo corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	78,73 Aa	82,25 Aa	79,66 Aa
Cultura de Tecidos	76,49 Aa	78,61 Aa	78,94 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	78,05 Aa	80,40 Aa	75,11 Bb
CV 1 (%)		4,91	
CV 2 (%)		3,65	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

Os métodos de obtenção de mudas influenciaram significativamente os teores de FDA das cvs. Mineiro e Taiwan A-147, sendo os teores da cv. Pioneiro independentes dos métodos aplicados. Verifica-se que o método termoterapia + cultura de tecidos proporcionou a maior concentração de FDA na MS da cv. Mineiro, enquanto, nos métodos cultura de tecidos e tradicional, os valores foram iguais e inferiores. Na cv. Taiwan A-147, o método tradicional proporcionou a maior concentração de FDA, sendo os valores obtidos nos outros dois métodos iguais e inferiores (Tabela 33).

Quando se comparam as três cultivares de capim-elefante dentro de um mesmo método de obtenção de mudas, verifica-se que a cv. Pioneiro apresentou os menores teores de FDA nos três métodos testados, sendo que, no método tradicional, a cv. Mineiro apresentou teor de FDA inferior à cv. Taiwan A-147 (Tabela 33). As respostas diferentes das cultivares aos métodos de obtenção de mudas provavelmente são decorrentes da constituição genética desses materiais. Os valores de FDA da cv. Pioneiro do presente trabalho concordam com os de Santos, Silva e Queiroz Filho (1999), que obtiveram 42,75% de FDA na MS do capim-elefante cv. Roxo.

TABELA 33. Teor de FDA (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao segundo corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	48,77 Aa	46,85 Ba	43,80 Ab
Cultura de Tecidos	46,68 Ba	46,18 Ba	44,13 Ab
Tradicional (Colmo Maduro)	45,45 Bb	48,87 Aa	41,97 Ac
CV 1 (%)		4,54	
CV 2 (%)		3,92	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

5.2.5 Teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S)

Os teores de P das cvs. Mineiro e Taiwan A-147 diferiram significativamente em resposta aos métodos de obtenção de mudas testados (Tabela 34). Verifica-se que os métodos de obtenção de mudas termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos apresentaram redução no teor de P da cv. Mineiro, tornando-os iguais e inferiores ao do método tradicional. Na cv.

Taiwan A-147 ocorreu o contrário, isto é, um aumento no teor de P no método termoterapia + cultura de tecidos, ao passo que nos métodos cultura de tecidos e tradicional os teores de P foram iguais e inferiores. Os teores de P da cv. Pioneiro foram independentes dos métodos de obtenção de mudas, provavelmente por esta cultivar ter sido propagada vegetativamente menos vezes que as demais estudadas e, por isso, ter sofrido menor interferência na sua composição mineral (Tabela 34). Analisando a concentração de P das cultivares dentro de cada método de obtenção de mudas, observa-se que no método termoterapia + cultura de tecidos a cv. Taiwan A-147 exibiu o maior teor, e a cv. Mineiro, o menor, ocupando posição intermediária a cv. Pioneiro. O método cultura de tecidos não influenciou os teores de P das cultivares e, no método tradicional, as concentrações de P foram iguais e superiores nas cvs. Mineiro e Pioneiro e inferior na cv. Taiwan A-147 (Tabela 34).

Guerrero, Fassbender e Blyndestein (1970a), estudando doses de N, encontraram de 0,32 a 0,38% de P na MS do capim-elefante.

TABELA 34. Teor de P (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao segundo corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	0,30 Bc	0,41 Aa	0,35 Ab
Cultura de Tecidos	0,31 Ba	0,30 Ba	0,33 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	0,36 Aa	0,29 Bb	0,36 Aa
CV 1 (%)		6,92	
CV 2 (%)		8,52	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

O teor de K na MS de todas as cultivares estudadas, no segundo corte, não sofreu influência dos diferentes métodos de obtenção de mudas. Da mesma

forma, também dentro de cada método, os teores de K das três cultivares de capim-elefante não diferiram entre si (Tabela 35).

Conforme já citado anteriormente, em função da elevada dosagem de K_2O (cloreto de potássio) aplicada, não foi encontrada nenhuma referência que mencionasse valores na mesma magnitude dos aqui relatados.

TABELA 35. Teor de K (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao segundo corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	12,43 Aa	12,09 Aa	13,12 Aa
Cultura de Tecidos	12,43 Aa	12,63 Aa	13,05 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	13,12 Aa	12,57 Aa	12,36 Aa
CV 1 (%)		10,47	
CV 2 (%)		7,56	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

As cvs. Mineiro e Pioneiro apresentaram concentrações de Ca iguais e inferiores nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos, em comparação às do método tradicional. Por sua vez, a cv. Taiwan A-147 apresentou teores de Ca iguais e superiores nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e tradicional, quando comparados ao do método cultura de tecidos (Tabela 36).

No método termoterapia + cultura de tecidos, verifica-se que a cv. Taiwan A-147 apresenta a mais alta concentração de Ca, e as cvs. Mineiro e Pioneiro, teores iguais e inferiores. O método cultura de tecidos não influenciou a concentração de Ca na MS das três cultivares. No método tradicional, as cvs. Mineiro e Taiwan A-147 apresentam teores de Ca iguais e superiores ao da cv. Pioneiro (Tabela 36). Os teores de Ca das cultivares de capim-elefante do primeiro e do segundo cortes (Tabelas 22 e 36) mantiveram-se constantes e concordam com aqueles obtidos por Próspero e Peixoto (1972), conforme já

discutido no primeiro corte (Tabela 22), iguais a 0,14 e 0,16% em capim-elefante cv Napier.

TABELA 36. Teor de Ca (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao segundo corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	0,12 Bb	0,15 Aa	0,12 Bb
Cultura de Tecidos	0,12 Ba	0,13 Ba	0,12 Ba
Tradicional (Colmo Maduro)	0,15 Aa	0,15 Aa	0,13 Ab
CV 1 (%)	10,15		
CV 2 (%)	7,35		

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

Seguindo o mesmo comportamento do Ca, os teores de Mg das cvs. Mineiro e Pioneiro foram influenciados significativamente pelos métodos de obtenção de mudas, sendo iguais e inferiores nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos, em comparação aos do método tradicional. As concentrações de Mg da cv. Taiwan A-147 foram independentes dos métodos estudados (Tabela 37).

Ao analisar a influência de cada método de obtenção de mudas sobre os teores de Mg na MS das cultivares, verifica-se que estes são estatisticamente iguais, exceto o da cv. Taiwan A-147, no método tradicional, que é estatisticamente inferior aos demais (Tabela 37). Também, tal como ocorreu com o Ca, é possível que sucessivas contaminações possam ter aumentado os teores de Mg nas células das plantas, sobretudo das cvs. Mineiro e Pioneiro. Os valores de Mg do presente estudo concordam com aqueles obtidos por Vélez-Santiago, Arroyo-Aguilú e Torres-Rivera (1982), com média de 0,30% em capim-elefante cv. Mercker.

TABELA 37. Teor de Mg (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao segundo corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	0,24 Ba	0,25 Aa	0,25 Ba
Cultura de Tecidos	0,26 Ba	0,24 Aa	0,27 Ba
Tradicional (Colmo Maduro)	0,31 Aa	0,27 Ab	0,30 Aa
CV 1 (%)	12,43		
CV 2 (%)	10,23		

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

Os teores de S não foram influenciados significativamente pelos métodos de obtenção de mudas testados. As três cultivares reagiram de maneira semelhante diante da aplicação de cada um dos métodos, apresentando concentrações iguais de S na MS (Tabela 38).

Os teores de S do segundo corte concordam com os valores obtidos por Próspero e Peixoto (1972) e também com os de Jumba, Suttle e Wandiga (1996), com média de 0,15% na MS do capim-elefante cv. Napier.

TABELA 38. Teor de S (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao segundo corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	0,16 Aa	0,15 Aa	0,16 Aa
Cultura de Tecidos	0,16 Aa	0,15 Aa	0,15 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	0,17 Aa	0,16 Aa	0,16 Aa
CV 1 (%)	9,46		
CV 2 (%)	9,07		

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

5.3 Terceiro corte (realizado em 01/09/2000)

5.3.1 Altura e número de perfilhos e de folhas por perfilho

A altura de perfilho foi significativamente influenciada pelos métodos de obtenção de mudas, pela cultivar e pela interação método x cultivar. A altura de perfilhos da cv. Mineiro não foi influenciada pelos métodos de obtenção de mudas. Por outro lado, a altura de perfilhos da cv. Taiwan A-147 foi mais elevada no método tradicional e menor no método termoterapia + cultura de tecidos, ocupando posição intermediária no método cultura de tecidos. Na cv. Pioneiro, as alturas de perfilhos foram iguais e inferiores nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e tradicional, em comparação às do método cultura de tecidos (Tabela 39).

Quando se compara a altura de perfilho das cultivares em cada método de obtenção de mudas, observa-se que as cvs. Mineiro e Pioneiro atingiram alturas iguais e superiores à cv. Taiwan A-147 em termoterapia + cultura de tecidos, ao passo que no método tradicional ocorreu exatamente o contrário. No método cultura de tecidos, as cvs. Mineiro e Taiwan A-147 apresentaram alturas de perfilhos iguais e inferiores às da cv. Pioneiro (Tabela 39).

Ao comparar as alturas de perfilhos das cultivares de capim-elefante do segundo e terceiro corte (Tabela 25), verifica-se que a altura do segundo corte foi superior à do terceiro corte (Tabela 39), provavelmente em função do estágio reprodutivo daquelas plantas, reduzindo o nível de reservas, aliado ao período de baixas temperaturas na rebrota logo após o segundo corte, o que pode ter proporcionado uma redução no metabolismo das plantas, ocasionando o menor crescimento em altura.

TABELA 39. Altura de perfilho (cm) das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao terceiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	23,00 Aa	18,83 Cb	26,17 Ba
Cultura de Tecidos	25,00 Ab	25,17 Bb	33,50 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	19,50 Ab	47,00 Aa	21,83 Bb
CV 1 (%)	21,95		
CV 2 (%)	16,00		

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

O número de folhas por perfilho das cvs Taiwan A-147 e Pioneiro sofreu influência significativa dos métodos de obtenção de mudas estudados. Já a cv. Mineiro foi indiferente aos três métodos aplicados (Tabela 40). Observou-se uma grande diferença na resposta das cultivares a cada método de obtenção de mudas.

Os números de folhas por perfilho da cv. Taiwan A-147 foi igual e inferior nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos, em comparação ao método tradicional. Já na cv. Pioneiro, aqueles números foram iguais e inferiores nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e tradicional, em comparação ao método cultura de tecidos (Tabela 40).

Os números de folhas por perfilho das três cultivares de capim-elefante foram iguais ($P > 0,05$) quando submetidas ao método termoterapia + cultura de tecidos, no terceiro corte. No método cultura de tecidos, as cvs. Mineiro e Taiwan A-147 apresentaram números de folhas iguais e inferiores ao da cv. Pioneiro. Já no método tradicional, as cvs. Mineiro e Pioneiro apresentaram números de folhas por perfilho iguais e inferiores ao da cv. Taiwan A-147 (Tabela 40).

TABELA 40. Número de folhas por perfilho das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao terceiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	8,33 Aa	8,50 Ba	8,00 Ba
Cultura de Tecidos	8,00 Ab	8,00 Bb	9,33 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	8,17 Ab	9,67 Aa	7,66 Bb
CV 1 (%)		13,94	
CV 2 (%)		11,12	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

A densidade de perfilhos das cvs. Mineiro e Taiwan A-147 sofreu influência significativa dos métodos de obtenção de mudas, não se verificando o mesmo com a cv. Pioneiro (Tabela 41). Isto já era esperado, pois a cv. Pioneiro, de uso mais recente, sofreu um menor número de repicagens do propágulo para a obtenção de novas populações, provavelmente estando pouco contaminada, fazendo com que não ocorram diferenças significativas entre os três métodos de obtenção de mudas testados.

Na cv. Mineiro, os maiores números de perfilhos, iguais entre si, ocorreram nos métodos de obtenção de mudas termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos, mostrando que provavelmente o clone esteja contaminado em razão das sucessivas multiplicações e que os métodos aplicados para promover a limpeza clonal foram eficientes, proporcionando um maior número de perfilhos. Na cv. Taiwan A-147, verifica-se que apenas o método cultura de tecidos foi eficiente na limpeza clonal, proporcionando maior número de perfilhos, enquanto os métodos termoterapia + cultura de tecidos e tradicional se equipararam em número de perfilhos (Tabela 41).

Os números de perfilhos das cultivares em um mesmo método de obtenção de mudas foram semelhantes em termoterapia + cultura de tecidos e

cultura de tecidos. No método tradicional, talvez em função do nível endógeno de contaminantes, as cvs. Mineiro e Taiwan A-147 apresentaram número de perfilhos iguais e inferiores ao da cv. Pioneiro (Tabela 41).

Segundo Nascimento (1997), ocorre perfilhamento mais intenso em capim-colonião e capim-jaraguá, entre o crescimento inicial e a primeira rebrota, do que entre a primeira e a segunda, fato também verificado neste trabalho (Tabelas 13, 27 e 41), concordando com Maia (1998), que constatou que a densidade de perfilhos de capim-tanzânia aumentou com a sucessão dos cortes. Botrel et al. (1998) registraram para a cv. Taiwan A-140, em campo, uma densidade de 110 perfilhos por m², valor bastante próximo aos encontrados neste estudo.

TABELA 41. Densidade de perfilhos (nº/vaso) das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao terceiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	106,00 Aa	94,83 Ba	113,83 Aa
Cultura de Tecidos	97,33 Aa	109,50 Aa	113,17 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	76,17 Bb	81,33 Bb	130,00 Aa
CV 1 (%)	22,71		
CV 2 (%)	14,84		

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

5.3.2 Produção de matéria seca

As produções de MS de folha das cvs. Mineiro e Taiwan A-147 foram significativamente influenciadas pela aplicação dos métodos de obtenção de mudas, ao passo que a cv. Pioneiro foi insensível a tais métodos, sugerindo que, possivelmente, esta possui baixo índice de contaminações (Tabela 42). As cvs.

Mineiro e Taiwan A-147 apresentaram produções de MS foliar iguais e superiores nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos, mostrando que as técnicas de limpeza clonal foram eficientes e promoveram aumentos na produção de MS foliar, quando comparadas ao método tradicional (Tabela 42).

Houve comportamento diferenciado das cultivares, quando comparadas em um mesmo método de obtenção de mudas. No método termoterapia + cultura de tecidos, as cvs. Mineiro e Taiwan A-147 apresentaram produções de MS foliar iguais e superiores à cv. Pioneiro. Já no método cultura de tecidos, as cvs. Taiwan A-147 e Pioneiro apresentaram produções iguais e inferiores à da cv. Mineiro. As produções de MS foliar das três cultivares estudadas foram semelhantes no método tradicional (Tabela 42).

TABELA 42. Produção de MS de folha (g/vaso) das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao terceiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	56,00 Aa	50,83 Aa	42,50 Ab
Cultura de Tecidos	60,50 Aa	52,33 Ab	47,83 Ab
Tradicional (Colmo Maduro)	46,17 Ba	41,33 Ba	42,00 Aa
CV 1 (%)		23,90	
CV 2 (%)		10,00	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

As produções de MS de caule das cvs. Taiwan A-147 e Pioneiro foram significativamente influenciadas pelos métodos aplicados, ao passo que a cv. Mineiro foi indiferente aos métodos. Nas cvs. Taiwan A-147 e Pioneiro, as produções de MS de caule foram iguais e superiores nos métodos cultura de

tecidos e tradicional, em comparação ao método termoterapia + cultura de tecidos (Tabela 43).

Houve interação significativa entre os métodos aplicados e as cultivares. No método termoterapia + cultura de tecidos, verifica-se que todas as cultivares apresentaram produções de MS de caule semelhantes. Já no método cultura de tecidos, as cvs. Mineiro e Pioneiro exibiram rendimentos de MS de caule iguais e inferiores à cv. Taiwan A-147. No método tradicional, a cv. Taiwan A-147 proporcionou a maior produção de MS de caule, e a Mineiro, a menor, ficando a cv. Pioneiro em posição intermediária.

TABELA 43. Produção de MS de caule (g/vaso) das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao terceiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	43,50 Aa	41,33 Ba	39,83 Ba
Cultura de Tecidos	43,83 Ab	53,67 Aa	44,50 Ab
Tradicional (Colmo Maduro)	39,00 Ac	57,33 Aa	46,33 Ab
CV 1 (%)		22,35	
CV 2 (%)		9,78	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

5.3.3 Relação folha/caule

A relação folha/caule foi influenciada significativamente pelos métodos, pelas cultivares e pela interação método x cultivar (Tabela 44).

A cv. Mineiro apresentou valores de relação folha/caule iguais e inferiores nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e tradicional, em comparação ao método cultura de tecidos. A cv. Taiwan A-147 apresentou a maior relação folha/caule no método termoterapia + cultura de tecidos e a menor

no método tradicional, ficando o método cultura de tecidos em posição intermediária. Os valores de relação folha/caule da cv. Pioneiro foram iguais e superiores nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos, em comparação ao método tradicional (Tabela 44).

Analisando os valores de relação folha/caule das cultivares em cada método de obtenção de mudas, observa-se que em termoterapia + cultura de tecidos as cvs. Mineiro e Taiwan A-147 proporcionaram valores iguais e superiores ao da cv. Pioneiro. Em cultura de tecidos, as cvs. Taiwan A-147 e Pioneiro exibiram valores iguais e inferiores ao da cv. Mineiro. Já no método tradicional, a cv. Mineiro apresentou o maior valor, a cv. Taiwan A-147, o menor, e a cv. Pioneiro, um valor intermediário (Tabela 44).

Os valores da relação folha/caule do segundo corte (Tabela 30) foram um pouco inferiores aos do terceiro corte (Tabela 44), principalmente das cvs. Mineiro e Taiwan A-147, provavelmente porque, no segundo corte, mais perfilhos encontraram-se na transição da fase vegetativa para a reprodutiva, portanto com mais caule.

TABELA 44. Relação folha/caule das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao terceiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	1,29 Ba	1,23 Aa	1,07 Ab
Cultura de Tecidos	1,38 Aa	1,02 Bb	1,08 Ab
Tradicional (Colmo Maduro)	1,25 Ba	0,75 Cc	0,91 Bb
CV 1 (%)		6,71	
CV 2 (%)		6,31	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

5.3.4 Teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA)

Verifica-se que a utilização dos métodos de obtenção de mudas termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos proporcionou decréscimos significativos no teor de PB da cv Mineiro, sendo o método termoterapia + cultura de tecidos o que proporcionou a maior queda. Na cv. Taiwan A-147, os teores de PB foram iguais e inferiores quando se empregaram os métodos cultura de tecidos e tradicional, em comparação ao método termoterapia + cultura de tecidos. Já com a cv. Pioneiro ocorreu o contrário, ou seja, os teores de PB foram iguais e inferiores nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos, em comparação ao método tradicional (Tabela 45).

Analisando a interação de cada método com as cultivares, observa-se que no método termoterapia + cultura de tecidos, as cvs. Taiwan A-147 e Pioneiro apresentaram teores de PB iguais e superiores ao da cv. Mineiro. No método cultura de tecidos, as cvs. Mineiro e Pioneiro apresentaram teores de PB iguais e superiores ao da cv. Taiwan A-147. Já no método tradicional, a cv. Mineiro apresentou maior concentração de PB; a cv. Taiwan A-147, a menor, e a cv. Pioneiro, concentração intermediária (Tabela 45).

Os teores de PB da Tabela 45 são equivalentes ao valor de 9,4% (Alvim, Botrel e Novelty, 1986) na MS do capim-elefante Mineiro, no período de inverno. Por outro lado, Meloti e Pedreira (1970/71) encontraram valores de 7,0 a 7,8% de PB na MS do capim-elefante, cv. Napier; já Vélez-Santiago, Arroyo-Aguilú e Torres-Rivera (1982) obtiveram 12% de PB em capim-elefante cv. Mercker.

TABELA 45. Teor de PB (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao terceiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	9,12 Cb	10,30 Aa	9,80 Ba
Cultura de Tecidos	10,52 Ba	9,01 Bb	10,06 Ba
Tradicional (Colmo Maduro)	12,76 Aa	9,05 Bc	11,71 Ab
CV 1 (%)		7,51	
CV 2 (%)		6,45	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

Os teores de FDN na MS das cvs. Mineiro e Pioneiro não foram influenciados pelos métodos de obtenção de mudas, enquanto na cv. Taiwan A-147 estes foram iguais e inferiores nos métodos cultura de tecidos e tradicional, em comparação ao método termoterapia + cultura de tecidos (Tabela 46).

Quando se comparam as cultivares dentro de cada método de obtenção de mudas, verifica-se que os teores de FDN na MS das cultivares foram semelhantes nos métodos cultura de tecidos e tradicional. Já no método termoterapia + cultura de tecidos, as cvs. Mineiro e Pioneiro apresentaram valores de FDN iguais e inferiores ao da cv. Taiwan A-147 (Tabela 46).

Estes teores de FDN assemelham-se bastante aos de Schank e Chynoweth (1993), cuja média foi de 77,53% na MS de híbridos de capim-elefante.

TABELA 46. Teor de FDN (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao terceiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	77,73 Ab	79,93 Aa	76,55 Ab
Cultura de Tecidos	76,81 Aa	77,62 Ba	78,43 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	76,44 Aa	77,32 Ba	77,84 Aa
CV 1 (%)		2,76	
CV 2 (%)		2,46	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

Os teores de FDA das três cultivares estudadas foram semelhantes em todos os métodos de obtenção de mudas testados. Na análise das concentrações de FDA das cultivares em cada método de obtenção de mudas, apenas no método tradicional as cvs. Mineiro e Taiwan A-147 exibem valores iguais e inferiores ao da cv. Pioneiro (Tabela 47).

Os valores de FDA da Tabela 47 estão próximos daqueles obtidos por Silveira, Tosi e Faria (1976), com média de 37,7% aos 75 dias de idade do capim-elefante, cv. Napier.

TABELA 47. Teor de FDA (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao terceiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	38,90 Aa	40,43 Aa	39,54 Aa
Cultura de Tecidos	38,96 Aa	39,76 Aa	38,70 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	38,06 Ab	38,39 Ab	40,12 Aa
CV 1 (%)		3,75	
CV 2 (%)		3,85	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

5.3.5 Teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S)

Somente os teores de P da cv. Taiwan A-147 foram influenciados pelos métodos de obtenção de mudas. Esta apresentou valores iguais e inferiores nos métodos cultura de tecidos e tradicional, em comparação ao método termoterapia + cultura de tecidos (Tabela 48). Quando se comparam os teores de P das cultivares em cada método de obtenção de mudas, verifica-se que no método termoterapia + cultura de tecidos as cvs. Mineiro e Taiwan A-147 apresentaram valores iguais e inferiores ao da cv. Pioneiro. No método cultura de tecidos, os valores foram semelhantes e, no tradicional, as cvs. Mineiro e Pioneiro exibiram valores iguais e superiores ao da cv. Taiwan A-147 (Tabela 48).

Gonzalez (1985), estudando o capim-elefante cv. Roxo, obteve 0,25% de P na MS da planta; já Próspero e Peixoto (1972) obtiveram 0,21% na MS de capim-elefante, cv. Napier, com 45 dias de idade. Estes valores são semelhantes aos encontrados neste trabalho, em cultivares de capim-elefante colhidas com 60 dias de idade.

TABELA 48. Teor de P (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao terceiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	0,25 Ab	0,27 Ab	0,30 Aa
Cultura de Tecidos	0,26 Aa	0,23 Ba	0,28 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	0,28 Aa	0,21 Bb	0,27 Aa
CV 1 (%)	11,02		
CV 2 (%)	9,09		

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

Da mesma forma como ocorreu com os teores de P, os teores de K das cvs. Mineiro e Pioneiro foram indiferentes aos métodos de obtenção de mudas testados. Por sua vez, a cv. Taiwan A-147 apresentou valores de K iguais e inferiores nos métodos cultura de tecidos e tradicional, em comparação ao método termoterapia + cultura de tecidos (Tabela 49). Na análise da concentração de K na MS das cultivares em cada método de obtenção de mudas, em termoterapia + cultura de tecidos, as cvs. Taiwan A-147 e Pioneiro exibiram valores iguais e superiores ao da cv. Mineiro. Nos demais métodos, os valores de K das três cultivares foram semelhantes (Tabela 49).

TABELA 49. Teor de K (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao terceiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	12,55 Ab	13,77 Aa	13,18 Aa
Cultura de Tecidos	12,89 Aa	12,91 Ba	12,62 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	13,10 Aa	12,36 Ba	12,95 Aa
CV 1 (%)		5,19	
CV 2 (%)		5,08	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

Os teores de Ca na MS das cvs. Mineiro e Pioneiro foram influenciados significativamente pelos métodos de obtenção de mudas estudados, não se verificando o mesmo com a cv. Taiwan A-147 (Tabela 50).

Na cv. Mineiro, os teores de Ca foram iguais e superiores nos métodos cultura de tecidos e tradicional, em comparação ao do método termoterapia + cultura de tecidos. Já na cv. Pioneiro, os teores de Ca foram iguais e inferiores nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos, em comparação ao método tradicional (Tabela 50). Quando se comparam os teores de Ca dentro de cada método de obtenção de mudas, observa-se que no método

termoterapia + cultura de tecidos, as cvs. Mineiro e Pioneiro apresentaram valores iguais e inferiores ao da cv. Taiwan A-147. Por sua vez, em cultura de tecidos, as cvs. Taiwan A-147 e Pioneiro exibiram valores iguais e inferiores ao da cv. Mineiro e, no método tradicional, os teores de Ca das três cultivares foram semelhantes (Tabela 50).

Os teores de Ca obtidos neste estudo ficaram abaixo dos encontrados por Lima et al. (1987); Cóser, Martins e Cruz Filho (1993) e Próspero e Peixoto (1972), situando-se entre 0,14 e 0,22% na MS de cultivares de capim-elefante.

TABELA 50. Teor de Ca (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao terceiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	0,10 Bb	0,12 Aa	0,10 Bb
Cultura de Tecidos	0,13 Aa	0,11 Ab	0,10 Bb
Tradicional (Colmo Maduro)	0,12 Aa	0,11 Aa	0,12 Aa
CV 1 (%)		4,95	
CV 2 (%)		7,88	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

Os teores de Mg na MS das cvs. Mineiro e Pioneiro foram independentes dos métodos de obtenção de mudas testados, não ocorrendo o mesmo com a cv. Taiwan A-147. As concentrações de Mg desta cultivar foram iguais e inferiores nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos, em comparação ao método tradicional (Tabela 51).

Na análise dos teores de Mg das cultivares em cada método de obtenção de mudas, verifica-se que no método termoterapia + cultura de tecidos, as cvs. Mineiro e Taiwan A-147 apresentaram valores iguais e inferiores ao da cv. Pioneiro. No método cultura de tecidos, os valores das três cultivares foram

semelhantes e, no método tradicional, as cvs. Taiwan A-147 e Pioneiro exibiram valores iguais e superiores ao da cv. Mineiro (Tabela 51).

Os teores de Mg das cultivares em estudo são muito superiores aos encontrados por Próspero e Peixoto (1972), 0,10% na MS do capim-elefante cv. Napier, e pouco inferiores aos determinados por Vélez-Santiago, Arroyo-Aguilú e Torres-Rivera (1982), 0,30% na MS do capim-elefante cv. Mercker.

TABELA 51. Teor de Mg (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao terceiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	0,24 Ab	0,25 Bb	0,28 Aa
Cultura de Tecidos	0,24 Aa	0,26 Ba	0,26 Aa
Tradicional (Colmo Maduro)	0,25 Ab	0,29 Aa	0,28 Aa
CV 1 (%)		8,53	
CV 2 (%)		7,69	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

Os teores de S na MS das cvs. Mineiro e Taiwan A-147 foram independentes dos métodos de obtenção de mudas, não ocorrendo o mesmo com a cv. Pioneiro. Nesta, os teores de S foram iguais e inferiores nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos, em comparação ao método tradicional (Tabela 52).

Na comparação dos teores de S das cultivares em cada método de obtenção de mudas, nota-se que as cvs. Mineiro e Taiwan A-147 apresentaram valores iguais e inferiores nos métodos termoterapia + cultura de tecidos e tradicional, em comparação aos da cv. Pioneiro. No método cultura de tecidos, os teores de S das três cultivares foram semelhantes (Tabela 52).

Conforme já discutido, os teores de S determinados por Jumba, Suttle e Wandiga (1996), 0,15% na MS do capim-elefante, assemelham-se aos aqui relatados.

TABELA 52. Teor de S (%) na MS das cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro ao terceiro corte, em função de métodos de obtenção de mudas.

Método	Cultivar		
	Mineiro	Taiwan A-147	Pioneiro
Termoterapia + Cult. Tecidos	0,13 Ab	0,13 Ab	0,15 Ba
Cultura de Tecidos	0,14 Aa	0,14 Aa	0,16 Ba
Tradicional (Colmo Maduro)	0,14 Ab	0,14 Ab	0,19 Aa
CV 1 (%)		8,90	
CV 2 (%)		9,80	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott Knott.

6 CONCLUSÕES

- De maneira geral, os métodos de obtenção de mudas termoterapia + cultura de tecidos e cultura de tecidos exerceram influência benéfica no crescimento, produção de matéria seca e qualidade da forragem das cultivares de capim-elefante estudadas, significando eficácia destes métodos na limpeza clonal.
- A cv. Mineiro de capim-elefante, de uso relativamente antigo, mostrou-se mais sensível à limpeza clonal do que as mais recentes, Taiwan A-147 e, sobretudo, a Pioneiro, indicando que o processo de repicagens pode alterar o comportamento agrônômico e nutricional das cultivares por efeito de contaminações por microorganismos, mostrando a necessidade deste tipo de estudo e posterior aplicação prática em cultivares velhas propagadas vegetativamente.
- A forragem produzida, das três cultivares, exibiu valores elevados de proteína bruta na idade de 60 dias, característica altamente positiva para a nutrição animal, e também valores elevados das frações fibrosas da fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido, característica negativa, porém própria de espécies de clima tropical.



FIGURA 14: Fotos ilustrativas mostrando (P) o aspecto das mudas de capim-elefante cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro no ato do plantio, após aclimatização de 30 dias (03/04/2000); (Q) capim-elefante ao primeiro corte (03/05/2000); (R) capim-elefante ao segundo corte (03/07/2000); (S, T e U) capim-elefante ao terceiro corte (01/09/2000), respectivamente para as cvs. Mineiro, Taiwan A-147 e Pioneiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVIM, M.J.; BOTREL, M. de A.; NOVELLY, P.E. Produção de gramíneas tropicais e temperadas, irrigadas na época da seca. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, v.15, n.5, p.384-392, set/out 1986.
- ANDRADE, I.F.; AIRES, I.M.; BASTOS, C.M.C.; CARNEIRO, A.M. Efeito da época de vedação sobre a produção e o valor nutritivo do capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum.) cv. Cameroon. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.19, n.4, p.243-255. jul/ago 1990.
- A.O.A.C. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. *Official methods of analysis*. 15.ed. v.1, Virginia, 1990. 684p.
- AVEIRO, A.R.; SIEWERDT, L.; LIMA JÚNIOR, P. Capim-elefante: efeitos da irrigação e das adubações mineral e orgânica. I - teor de produção total de matéria seca. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. Viçosa, v.20, n.4, p.339-347, jul/ago 1991.
- BANZATO, D. A.; KRONKA, S. N. *Experimentação Agrícola*. 3.ed. Jaboticabal:Funep, 1995. 247p.
- BELTRANO, J.; RONCO, M.G.; BARREIRO, R.; MONTALDI, E.R. Plant architecture of *Paspalum vaginatum* Schwartz modified by nitrate and ammonium nutrition. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.34, n.7, p.1159-1166, Jul 1999.
- BLANCHAR, R.W.; REHM, G.; CALDEWEL, A.C. Sulfur in plant materials by digestion with nitric and perchloric acid. *Soil Science Society of America Proceedings*, Madison, v.29, n.1, p.71-72, Jan/Feb 1965.
- BOTREL, M. de A.; PEREIRA, A.V.; XAVIER, D.F.; ALVIM, M.J.; FREITAS, V. de P. Avaliação de novos clones de capim-elefante, para utilização sob pastejo. XXXV Reunião Anual da SBZ, Botucatu, 1998. (CD room).
- CASTRO, C.R.T. Tolerância de gramíneas forageiras tropicais ao sombreamento, Viçosa:UFV, 1996, 247p. (Tese Doutorado em Zootecnia).

CHANDLER, J.V. Intensive grassland management in Puerto Rico. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.2, n.2, p.173-215, 1973.

COLOZZA, M.T. Rendimento e diagnose foliar de capins aruana e mombaça cultivados em latossolo vermelho-amarelo adubado com doses de nitrogênio. Piracicaba: ESALQ, 1998, 127p. (Dissertação Mestrado em Zootecnia).

CÓSER, A.C.; MARTINS, C.E.; CRUZ FILHO, A.B. da. Produção e qualidade da forragem de dois cultivares de capim-elefante em diferentes pedopaisagens. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.22, n.02, p.189-193, mar/abr 1993.

EZEQUIEL, J.M.B.; FAVORETTO, V. Efeito do manejo sobre a produção e composição química de perfilhos de capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq.). *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.29, n.6, p.1596-1607, nov/dez 2000.

FERREIRA, D.F. Programa de análises estatísticas SISVAR. Lavras:UFLA, 2000.

FONSECA, D.M. da; SALGADO, L.T.; QUEIROZ, D.S.; CÓSER, A.C.; MARTINS, C.E.; BONJOUR, S.C. de M. Produção de leite em pastagem de capim-elefante sob diferentes períodos de ocupação de piquetes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.27, n.5, p.848-856, set/out 1998.

GONÇALEZ, D.A. Capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) cv. Roxo de Botucatu. *Boletim da Indústria Animal*, Nova Odessa, v.42, n.1, p.141-142, jan/jun 1985.

GUERRERO, R.; FASSBENDER, H.W.; BLYDENSTEIN, J. Fertilización del pasto elefante (*Pennisetum purpureum*) en Turrialba, Costa Rica. I. Efecto de dosis crecientes de nitrógeno. *Turrialba*, v.20, n.1, p.53-58, 1970a.

GUERRERO, R.; FASSBENDER, H.W.; BLYDENSTEIN, J. Fertilización del pasto elefante (*Pennisetum purpureum*) en Turrialba, Costa Rica. II. Efecto de combinaciones nitrógeno - fósforo. *Turrialba*, San Jose, v.20, n.1, p.59-63, ene/mar 1970b.

- JUMBA, I.O.; SUTTLE, N.F.; WANDIGA, S.O. Mineral composition of tropical forages in the Mount Elgon region of Kenya. 1. Macro-minerals. *Tropical Agriculture*, Trinidad, v.73, n.2, p.108-112, Apr 1996.
- LIMA, M.F. de; JÚNIOR, D. do N.; OBEID, J.A.; RIBEIRO, A.C.; BRAGA, J.M. Uso da vinhaça como fertilizante em capineira de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum.) variedades Cameroon e Mineirão - 3º ano. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.16, n.2, p.148-157, mar/abr 1987.
- LIRA, M. de A.; DUBEUX JÚNIOR, J.C.B.; OLIVEIRA, C.F.; TABOSA, J.N. Competição de cultivares de capim-elefante x milheto (*Pennisetum americanum* (L) Leeke) sob pastejo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.28, n.5, p.936-946, set/out 1999.
- MAIA, M.C. Cultivo de milheto (*Pennisetum americanum* (L.) Leeke) e seu uso no estabelecimento de pastagem no sul de Minas Gerais, Lavras:UFLA, 1998, 77p. (Dissertação Mestrado em Zootecnia).
- MALAVOLTA, E.; VITI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações. Piracicaba:POTAFÓS, 1989, 210p.
- MELOTTI, L.; PEDREIRA, J.V.S. Determinação do valor nutritivo dos capins Napier (*Pennisetum purpureum*, Schum.) e guatemala (*Tripsacum laxum*, Nash) em 2 estádios de maturação, através de ensaio de digestibilidade (aparente) em carneiros. *Boletim da Indústria Animal*, Nova Odessa, v.27/28, n.s., p.207-222, 1970/71.
- NASCIMENTO, M. do P.S.C. do. Alguns aspectos morfológicos de três gramíneas de clima tropical. Viçosa: UFV, 1997, 41p. (Dissertação Mestrado em Zootecnia).
- PASSOS, L.P. Fisiologia do capim-elefante: uma revisão analítica. IN: PASSOS, L.P.; CARVALHO, L.A.; MARTINS, C.E.; BRESSAN, M.; PEREIRA, A.V. *Biologia e manejo do capim-elefante*. Juiz de Fora: EMBRAPA/CNPGL, 1999. p.29-62.

PETERSEN, R.G. *Agricultural field experiments: design and analysis*. New York:Marcel Dekker, 1994. 409p.

PINTO, J.C. Crescimento e desenvolvimento de *Andropogon gayanus* Kunth, *Panicum maximum* Jacq. e *Setaria anceps* Stapf ex Massey cultivadas em vasos, sob diferentes doses de nitrogênio. Viçosa:UFV, 1993, 149p. (Tese Doutorado em Zootecnia).

PINTO, J.C.; GOMIDE, J.A.; MAESTRI, M. Produção de matéria seca e relação folha/caule de gramíneas forrageiras tropicais, cultivadas em vasos sob duas doses de nitrogênio. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.23, n.3, p.313-326. 1994.

PRÓSPERO, A.O.; PEIXOTO, A.M. Composição mineral do capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum.) variedade Napier, em diferentes estádios de desenvolvimento. *O Solo*, Piracicaba, v.64, n.2, p.45-51, 1972.

RODRIGUES, L.R. de A.; MOTT, G.O.; VEIGA, J.B.; OCUMPAGH, W.R. Effects of grazing management on leaf area and total nonstructural carbohydrates of Dwarf elephantgrass. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.22, n.2, p.195-201, Feb 1987.

SANTANA, J.R. de; PEREIRA, J.M.; ARRUDA, N.G. de; RUIZ, M.A.M. Avaliação de cultivares de capim-elefante *Pennisetum purpureum* Schum. no sul da Bahia. I - Agrossistema cacauero. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.18, n.3, p.273-283, maio/jun 1989.

SANTOS, E.A. dos; SILVA, D.S. da; QUEIROZ FILHO, J.L. de. Composição química do capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum.) cv. Roxo cortado em diferentes alturas em época seca e chuvosa. XXXVI Reunião anual da SBZ, 1999. (CD room).

SANTOS, M. do C.S. do; TABOSA, J.N.; DIAS, F.M.; FREITAS, E.V. de F.; LIRA, M. de A. Comportamento de clones de capim-elefante e híbridos de capim-elefante x milheto no semi-árido do nordeste do Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.29, n.10, p.1609-1615, out 1994.

- SCHANK, S.C.; CHYNOWETH, D.P. The value of triploid, tetraploid, and hexaploid Napier grass derivatives as biomass and (or) forage. *Tropical Agriculture, Trinidad*, v.70, n.1, p.83-87, Jan 1993.
- SILVA, D.S. da; GOMIDE, J.A.; QUEIROZ, A.C. de. Pressão de pastejo em pastagem de capim-elefante Anão (*Pennisetum purpureum*, Schum. cv. Mott): 2 efeito do valor nutritivo, consumo de pasto e produção de leite. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Viçosa*, v.23, n.3, p.453-464, maio/jun 1994.
- SILVEIRA, A.C.; TOSI, H.; FARIA, V.P. de. Determinação dos carboidratos do capim-elefante variedade Napier por diferentes métodos de análise. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Viçosa*, v.5, n.1, p.9-18, jan/fev 1976.
- SILVEIRA, A.C.; TOSI, H.; FARIA, V.P. de. Efeito da maturidade sobre a composição química bromatológica do capim Napier (*Pennisetum purpureum* Schum). *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Viçosa*, v.3, n.2, p.159-171, mar/abr 1974.
- SKERMAN, P.J.; RIVEROS, F. *Gramíneas Tropicais*. Italia:FAO, Biblioteca David Lubin, 1992, 849p.
- TEIXEIRA, E.I. Avaliação de características morfofisiológicas e nutricionais do capim-tobiata (*Panicum maximum* cv. Tobiata) sob sistema de pastejo rotacionado. Piracicaba:ESALQ, 1998, 87p. (Dissertação Mestrado em Zootecnia).
- VÉLEZ-SANTIAGO, J.; ARROYO-AGUILÚ, J.A.; TORRES-RIVERA, S. Yield, crude protein, and chemical composition of five Napier grass cultivars on the northwestern coastal plains of Puerto Rico. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, Dez. 1982.
- VILELA, H.; NOGUEIRA, A.C.; TEIXEIRA, E. de A.; RODRIGUES, N.; BARBOSA, F.A.; VILELA, L.F. Produção de forragem do híbrido hexaplóide (*Pennisetum glaucum* x *Pennisetum purpureum*) capim-elefante Paraíso e seu valor nutritivo. XXXV Reunião Anual da SBZ, (CD room), Botucatu, 1998.

ANEXOS

ANEXO A	Página
TABELA 1A	Resumo das análises de variância para número de perfilhos por touceira, UFLA, Lavras, MG, 2001..... 130
TABELA 2A	Resumo das análises de variância para altura de perfilhos, UFLA, Lavras, MG, 2001..... 130
TABELA 3A	Resumo das análises de variância para número de folhas por perfilho, UFLA, Lavras, MG, 2001. 130
TABELA 4A	Resumo das análises de variância para matéria seca do caule, UFLA, Lavras, MG, 2001. 131
TABELA 5A	Resumo das análises de variância para matéria seca da folha, UFLA, Lavras, MG, 2001..... 131
TABELA 6A	Resumo das análises de variância para relação folha/caule, UFLA, Lavras, MG, 2001..... 131
TABELA 7A	Resumo das análises de variância para proteína bruta, UFLA, Lavras, MG, 2001. 132
TABELA 8A	Resumo das análises de variância para fibra em detergente neutro, UFLA, Lavras, MG, 2001..... 132
TABELA 9A	Resumo das análises de variância para fibra em detergente ácido, UFLA, Lavras, MG, 2001. 132
TABELA 10A	Resumo das análises de variância para o teor de fósforo, UFLA, Lavras, MG, 2001..... 133
TABELA 11A	Resumo das análises de variância para o teor de cálcio, UFLA, Lavras, MG,2001. 133
TABELA 12A	Resumo das análises de variância para o teor de magnésio, UFLA, Lavras, MG, 2001..... 133

TABELA 13A	Resumo das análises de variância para o teor de potássio, UFLA, Lavras, MG, 2001.....	134
TABELA 14A	Resumo das análises de variância para o teor de enxofre, UFLA, Lavras, MG, 2001.....	134
TABELA 15A	Resumo das análises de variância para o número de brotações (NBRO), número de raízes (NRAI) e crescimento em altura (ALT) da cultivar Mineiro - 1ª Fase, UFLA, Lavras, MG, 2001.....	134
TABELA 16A	Resumo das análises de variância para o número de brotações (NBRO), número de raízes (NRAI) e crescimento em altura (ALT) da cultivar Taiwan A-147 - 1ª Fase, UFLA, Lavras, MG, 2001.....	135
TABELA 17A	Resumo das análises de variância para o número de brotações (NBRO), número de raízes (NRAI) e crescimento em altura (ALT) da cultivar Pioneiro - 1ª Fase, UFLA, Lavras, MG, 2001.....	135
TABELA 18A	Resumo das análises de variância para o número de brotações (NBRO), número de raízes (NRAI) e crescimento em altura (ALT) das cultivares Mineiro e Pioneiro - 2ª Fase, UFLA, Lavras, MG, 2001.....	135

TABELA 1A. Resumo das análises de variância para número de perfilhos por touceira, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		1° Corte	2° Corte	3° Corte
Bloco	5	121.051852*	188.611111 ^{NS}	77.051852 ^{NS}
Cultivares	2	391.129630**	672.388889 ^{NS}	3701.629630*
Erro (a)	10	31.085185	216.366667	541.629630
Métodos	2	3.547074 ^{NS}	377.722222*	610.018519 ^{NS}
Método*Cultivares	4	23.157407 ^{NS}	86.361111 ^{NS}	1275.962963**
Erro (b)	30	14.162963	101.081481	231.225926
Total	53			
Média Geral		18.5925926	55.611111	102.4814815
CV 1		29.99	26.45	22.71
CV 2		18.5925926	18.08	14.84

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.

TABELA 2A. Resumo das análises de variância para altura de perfilhos, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		1° Corte	2° Corte	3° Corte
Bloco	5	130.607407 ^{NS}	9.662963 ^{NS}	13.555556 ^{NS}
Cultivares	2	8704.796296**	118.018519 ^{NS}	279.500000**
Erro (a)	10	52.951852	102.129630	34.255556
Métodos	2	236.574074*	265.851852 ^{NS}	226.888889**
Método*Cultivares	4	25.435185 ^{NS}	164.435185 ^{NS}	669.222222**
Erro (b)	30	49.125926	105.174074	18.200000
Total	53			
Média Geral		31.1481481	40.3518519	26.666667
CV 1		23.36	25.04	21.95
CV 2		22.50	25.42	16.00

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.

TABELA 3A. Resumo das análises de variância para número de folhas por perfilho, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		1° Corte	2° Corte	3° Corte
Bloco	5	2.418519 ^{NS}	18.207407 ^{NS}	0.740741 ^{NS}
Cultivares	2	105.907407**	11.796296 ^{NS}	1.462963 ^{NS}
Erro (a)	10	1.818519	20.974074	1.374074
Métodos	2	4.786296*	11.629630 ^{NS}	0.240741 ^{NS}
Método*Cultivares	4	0.879630 ^{NS}	9.212963 ^{NS}	4.490741**
Erro (b)	30	1.274074	13.507407	0.874074
Total	53			
Média Geral		9.5370370	8.0740741	8.4074074
CV 1		14.14	56.72	13.94
CV 2		11.84	45.52	11.92

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.

TABELA 4A. Resumo das análises de variância para matéria seca do caule, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		1° Corte	2° Corte	3° Corte
Bloco	5	8.211111 ^{NS}	160.296296 ^{NS}	58.562963 ^{NS}
Cultivares	2	132.666667 ^{**}	971.185185 ^{**}	388.074074 ^{NS}
Erro (a)	10	3.111111	127.874074	103.318519
Métodos	2	11.722222 ^{**}	139.351852 ^{NS}	208.296296 ^{**}
Método*Cultivares	4	5.638889 [*]	500.546296 ^{**}	162.185185 ^{**}
Erro (b)	30	1.844444	64.703704	19.800000
Total	53			
Média Geral		9.0555556	41.3703704	45.4814815
CV 1		19.48	27.33	22.35
CV 2		15.00	19.44	9.78

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.

TABELA 5A. Resumo das análises de variância para matéria seca da folha, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		1° Corte	2° Corte	3° Corte
Bloco	5	18.888889 [*]	94.385185 ^{NS}	70.300000 ^{NS}
Cultivares	2	5.055556 ^{NS}	13.351852 ^{NS}	466.055556 ^{NS}
Erro (a)	10	4.144444	54.574074	136.188889
Métodos	2	26.166667 ^{**}	289.240741 ^{**}	497.722222 ^{**}
Método*Cultivares	4	9.222222 [*]	25.879630 ^{NS}	50.444444 ^{NS}
Erro (b)	30	3.025926	34.711111	23.825926
Total	53			
Média Geral		12.000000	39.9259259	48.833333
CV 1		16.96	18.50	23.90
CV 2		14.50	14.76	10.00

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.

TABELA 6A. Resumo das análises de variância para relação folha/caule, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		1° Corte	2° Corte	3° Corte
Bloco	5	0.066827 ^{NS}	0.039025 ^{NS}	0.001381 ^{NS}
Cultivares	2	3.063339 ^{**}	0.447235 [*]	0.537807 ^{**}
Erro (a)	10	0.030319	0.069515	0.005507
Métodos	2	0.163006 ^{NS}	0.268007 ^{**}	0.267346 ^{**}
Método*Cultivares	4	0.076294 ^{NS}	0.359924 ^{**}	0.080955 ^{**}
Erro (b)	30	0.059180	0.030261	0.004872
Total	53			
Média Geral		1.4300000	1.0385185	1.1062963
CV 1		12.18	25.39	6.71
CV 2		17.01	16.75	6.31

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.

TABELA 7A. Resumo das análises de variância para proteína bruta, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		1 ^o Corte	2 ^o Corte	3 ^o Corte
Bloco	5	0.439869 ^{NS}	2.362846 ^{NS}	0.259643 ^{NS}
Cultivares	2	36.376135 ^{**}	15.319652 [*]	9.105002 ^{**}
Erro (a)	10	0.927929	3.399872	0.593326
Métodos	2	15.709563 ^{**}	8.018846 ^{**}	11.362457 ^{**}
Método*Cultivares	4	2.338663 ^{NS}	5.293785 ^{**}	9.233474 ^{**}
Erro (b)	30	1.599367	0.972721	0.437897
Total	53			
Média Geral		20.8801852	12.9457407	10.2581481
CV 1		4.61	14.24	7.51
CV 2		6.06	7.62	6.45

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.

TABELA 8A. Resumo das análises de variância para fibra em detergente neutro, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		1 ^o Corte	2 ^o Corte	3 ^o Corte
Bloco	5	32.975084 ^{NS}	7.428751 ^{NS}	10.268104 ^{NS}
Cultivares	2	79.92961 ^{**7}	40.293617 ^{NS}	7.554080 ^{NS}
Erro (a)	10	11.861328	14.905614	4.589662
Métodos	2	6.260822 ^{NS}	31.327606 ^{**}	3.398607 ^{NS}
Método*Cultivares	4	43.732064 ^{**}	16.169614 ^{NS}	8.557994 ^{**}
Erro (b)	30	10.862928	8.231660	3.638467
Total	53			
Média Geral		81.1872222	78.6933333	77.6301852
CV 1		4.24	4.91	2.76
CV 2		4.06	3.65	2.46

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.

TABELA 9A. Resumo das análises de variância para fibra em detergente ácido, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		1 ^o Corte	2 ^o Corte	3 ^o Corte
Bloco	5	40.610036 ^{NS}	3.724978 ^{NS}	6.057537 ^{NS}
Cultivares	2	33.272106 ^{NS}	88.593356 ^{**}	4.342217 ^{NS}
Erro (a)	10	29.902754	4.328147	2.161077
Métodos	2	10.748939 ^{NS}	5.407706 ^{NS}	2.693406 ^{NS}
Método*Cultivares	4	12.643944 ^{NS}	15.679444 ^{**}	4.201789 ^{NS}
Erro (b)	30	19.540207	3.239511	2.283661
Total	53			
Média Geral		35.0766667	45.8566667	39.2061111
CV 1		15.59	4.54	3.75
CV 2		12.06	3.92	3.85

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.

TABELA 10A. Resumo das análises de variância para o teor de fósforo, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		1º Corte	2º Corte	3º Corte
Bloco	5	0.000551 ^{NS}	0.001060 ^{NS}	0.002225 ^{NS}
Cultivares	2	0.011022**	0.003635**	0.009919**
Erro (a)	10	0.000453	0.000535	0.001530
Métodos	2	0.005039**	0.006469**	0.001646 ^{NS}
Método*Cultivares	4	0.008953**	0.014332**	0.003924**
Erro (b)	30	0.000590	0.000811	0.000991
Total	53			
Média Geral		0.4244444	0.3342593	0.2603704
CV 1		5.02	6.92	15.02
CV 2		5.72	8.52	12.09

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.

TABELA 11A. Resumo das análises de variância para o teor de cálcio, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		1º Corte	2º Corte	3º Corte
Bloco	5	0.000020 ^{NS}	0.001039**	0.000074 ^{NS}
Cultivares	2	0.002319**	0.001891**	0.000467**
Erro (a)	10	0.000127	0.000175	0.000031
Métodos	2	0.000002 ^{NS}	0.001891**	0.000239 ^{NS}
Método*Cultivares	4	0.000896**	0.000682**	0.000556**
Erro (b)	30	0.000085	0.000092	0.000079
Total	53			
Média Geral		0.1346296	0.1303704	0.1127778
CV 1		8.38	10.15	4.95
CV 2		6.84	7.35	7.88

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.

TABELA 12A. Resumo das análises de variância para o teor de magnésio, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		1º Corte	2º Corte	3º Corte
Bloco	5	0.000136 ^{NS}	0.002070 ^{NS}	0.000180 ^{NS}
Cultivares	2	0.007513**	0.002469 ^{NS}	0.004069**
Erro (a)	10	0.000257	0.001086	0.000495
Métodos	2	0.005224**	0.011857**	0.002957**
Método*Cultivares	4	0.000752 ^{NS}	0.000899 ^{NS}	0.000971 ^{NS}
Erro (b)	30	0.000514	0.000736	0.000402
Total	53			
Média Geral		0.3148148	0.2651852	0.2609259
CV 1		5.10	12.43	8.53
CV 2		7.20	10.23	7.69

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.

TABELA 13A. Resumo das análises de variância para o teor de potássio, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		1º Corte	2º Corte	3º Corte
Bloco	5	1.421495 ^{NS}	0.598446 ^{NS}	0.323478 ^{NS}
Cultivares	2	4.746066 ^{NS}	0.776361 ^{NS}	0.126965 ^{NS}
Erro (a)	10	2.356610	1.753099	0.449684
Métodos	2	3.600359 ^{**}	0.133036 ^{NS}	0.787471 ^{NS}
Método*Cultivares	4	1.974219 ^{NS}	1.192939 ^{NS}	1.570462 ^{**}
Erro (b)	30	0.975897	0.912853	0.430782
Total	53			
Média Geral		13.6934444	12.6439630	12.9241481
CV 1		11.21	10.47	5.19
CV 2		7.21	7.56	5.08

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.

TABELA 14A. Resumo das análises de variância para o teor de enxofre, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		1º Corte	2º Corte	3º Corte
Bloco	5	0.000049 ^{NS}	0.000307 ^{NS}	0.000230 ^{NS}
Cultivares	2	0.003159 ^{**}	0.000334 ^{NS}	0.003946 ^{**}
Erro (a)	10	0.000166	0.000220	0.000174
Métodos	2	0.000184 ^{NS}	0.000499 ^{NS}	0.000598 ^{NS}
Método*Cultivares	4	0.000126 ^{NS}	0.000186 ^{NS}	0.000788 ^{**}
Erro (b)	30	0.000188	0.000203	0.000221
Total	53			
Média Geral		0.1809074	0.1570000	0.1482407
CV 1		7.13	9.46	8.90
CV 2		7.58	9.07	9.80

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.

TABELA 15A. Resumo das análises de variância para o número de brotações (NBRO), número de raízes (NRAI) e crescimento em altura (ALT) da cultivar Mineiro - 1ª Fase, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		NBRO	NRAI	ALT
Bloco	4	9.182682 ^{NS}	6.117903 [*]	1.308360 ^{NS}
Consistência do meio (CM)	1	71.928018 ^{**}	7.220000 ^{NS}	3.532482 [*]
Nível de fitoregulador (NF)	4	80.292437 ^{**}	10.400908 ^{**}	3.843175 ^{**}
CM*NF	4	6.421683 ^{NS}	4.691170 ^{NS}	1.494667 ^{NS}
Erro	36	5.807350	1.969589	0.829388
Total	49			
Média Geral		5.0358000	3.1376000	4.7670000
CV		47.85	44.73	19.10

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.

TABELA 16A. Resumo das análises de variância para o número de brotações (NBRO), número de raízes (NRAI) e crescimento em altura (ALT) da cultivar Taiwan A-147 - 1ª Fase, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		NBRO	NRAI	ALT
Bloco	4	0.988197 ^{NS}	0.219546 ^{NS}	0.437482 ^{NS}
Consistência do meio (CM)	1	272.468193**	0.198592 ^{NS}	1.491665 ^{NS}
Nível de fitorregulador (NF)	4	87.223200**	9.215068**	5.181235**
CM*NF	4	4.292983*	1.768537 ^{NS}	0.976105 ^{NS}
Erro	36	1.731242	1.627008	0.441643
Total	49			
Média Geral		4.3389063	2.4556250	4.5317187
CV		30.32	51.94	14.66

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.

TABELA 17A. Resumo das análises de variância para o número de brotações (NBRO), número de raízes (NRAI) e crescimento em altura (ALT) da cultivar Pioneiro - 1ª Fase, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		NBRO	NRAI	ALT
Bloco	4	4.604168 ^{NS}	0.937723 ^{NS}	0.352435 ^{NS}
Consistência do meio (CM)	1	124.851602**	6.719778*	0.488072 ^{NS}
Nível de fitorregulador (NF)	4	41.398333**	22.827163**	6.946915**
CM*NF	4	16.557437**	5.369893*	0.194817 ^{NS}
Erro	36	2.562645	1.695917	0.304618
Total	49			
Média Geral		3.3374000	3.6034000	4.1980000
CV		47.97	36.14	13.15

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.

TABELA 18A. Resumo das análises de variância para o número de brotações (NBRO), número de raízes (NRAI) e crescimento em altura (ALT) das cultivares Mineiro e Pioneiro - 2ª Fase, UFLA, Lavras, MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM		
		NBRO	NRAI	ALT
Bloco	4	4.107417 ^{NS}	2.049480 ^{NS}	0.688067 ^{NS}
Cultivar (CV)	1	0.536003 ^{NS}	0.241203 ^{NS}	0.496653 ^{NS}
Consistência do meio (CM)	2	69.773410**	132.005563**	0.057460 ^{NS}
CV*CM	2	10.872923 ^{NS}	0.650743 ^{NS}	0.424143 ^{NS}
Erro	20	4.165391	3.952780	0.481787
Total	29			
Média Geral		8.5750000	5.2623333	4.6700000
CV		23.80	37.78	14.86

(NS) Não significativo pelo teste de F; (*) Significativo ao nível de 5% e (**) ao nível de 1%.