



ANDRÉA KRYSTINA VINENTE GUIMARÃES

**CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E
ANÁTOMO-QUALITATIVAS DE TRÊS
FORRAGEIRAS EM RESPOSTA A FÓSFORO E
IDADE**

LAVRAS – MG

2010

ANDRÉA KRYSTINA VINENTE GUIMARÃES

**CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E ANÁTOMO-QUALITATIVAS
DE TRÊS FORRAGEIRAS EM RESPOSTA A FÓSFORO E IDADE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Forragicultura e Pastagens, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dr. José Cardoso Pinto

LAVRAS - MG

2010

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Guimarães, Andréa Krystina Vinente.

Características produtivas e anátomo-qualitativas de três
forrageiras em resposta a fósforo e idade / Andréa Krystina Vinente
Guimarães. – Lavras : UFLA, 2010.

147 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

Orientador: José Cardoso Pinto.

Bibliografia.

1. *Calopogonium mucunoides*. 2. *Brachiaria brizantha*. 3.
Pueraria pahseoloides. 4. Esclerênquima. 5. Digestibilidade. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 633.2

ANDRÉA KRYSTINA VINENTE GUIMARÃES

**CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E ANÁTOMO-QUALITATIVAS
DE TRÊS FORRAGEIRAS EM RESPOSTA A FÓSFORO E IDADE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Forragicultura e Pastagens, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 09 de dezembro de 2010.

Dr. Evaristo Mauro de Castro	UFLA
Dr. Gudesteu Porto Rocha	UFLA
Dr. Ronan Magalhães de Souza	UNIPAM
Dr. Carla Luiza da Silva Ávila	UFLA

Dr. José Cardoso Pinto
Orientador

LAVRAS - MG

2010

A minha mãe, Eudoxia Vinente Guimarães

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS, por ter me dado o dom da vida, por estar ao meu lado em toda minha caminhada e sempre me amparar nos momentos difíceis.

A minha família, especialmente aos meus pais e irmãos, pelo incentivo e amor a mim dedicados.

À Universidade Federal de Lavras – UFLA, em particular ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu querido orientador Professor José Cardoso Pinto, pela orientação, amizade, confiança, compreensão e generosidade em compartilhar seus conhecimentos.

Aos meus amigos Ronan Magalhães, Fábio Henrique, Isabel Martineli, Jamile Araújo, Paula Rodrigues, Aline Lago, José Libêncio, Mariana Maseo, Thalita Rage, Thiago França, Ronaldo Lima, Leonardo Pereira, Tiago Teófilo, Fábio Bruhn, que compartilharam momentos difíceis e felizes, pelas farras, pela amizade, companheirismo, pelos churrascos e passeios, enfim, por tudo de bom que passamos juntos.

Um agradecimento especial ao meu amigo Tiago Teófilo, pela amizade e contribuição fundamental na adequação desta tese.

Ao Professor Antônio Ricardo Evangelista, pelo agradável convívio, amizade e valiosos ensinamentos ao longo da minha trajetória no Grupo de Estudos NEFOR.

Aos Professores, Gudesteu Porto Rocha, Evaristo Mauro de Castro, Ronan Magalhães de Souza e Carla Luiza da Silva Ávila pelas valiosas críticas e sugestões.

Aos meus Co-orientadores Evaristo Mauro de Castro e Valdemar Faquin, pela orientação e disponibilização da estrutura física e laboratorial para execução e análises dos experimentos.

Aos discentes Adriano Freire, Rodrigo Menezes, Paulo Boldrin, Diego (Espeto), Olavo Lopes, Mirian de Faria, Cristiane Lima e Samara Arcanjo pela fundamental ajuda na condução dos trabalhos de campo e laboratoriais.

Aos professores e funcionários do DZO, em especial a Márcio Nogueira, José Virgílio, Carlos Henrique, Joelma por todo apoio fornecido.

Aos professores e funcionários do DCS.

Às empresas de sementes Fachioli e Matsuda, que doaram as sementes para execução do experimento.

Aos integrantes do Núcleo de Estudos em Forragicultura – NEFOR, pela amizade, pelos conhecimentos adquiridos juntos e momentos de descontração.

Aos meus colegas de pós-graduação, especialmente Julimar Ribeiro, Caio Fortes, Luciene Bitencourt, Jairo Azevedo, Fabrício Ribeiro, Gilson Dias, Juliana Dias, Lucilene Medeiros, Flávio Faria, Rafael Madail, Cynthia Oliveira e aos demais colegas, pela amizade, pelas conversas informais e companheirismo.

A todos os professores e pesquisadores que contribuíram para minha formação acadêmica e científica.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho, devo externar o meu...

MUITO OBRIGADA!

“Nem tudo que se enfrenta pode ser modificado, mas nada pode ser modificado até que seja enfrentado.”

Albert Einstein

RESUMO

Objetivando avaliar o efeito de doses de P e idades de corte na anatomia e valor nutritivo de folhas e caules de *Brachiaria brizantha* Stapf cv. Marandu, *Pueraria phaseoloides* e *Calopogonium mucunoides*, conduziu-se um experimento inteiramente casualizado com quatro repetições. A gramínea foi submetida a um esquema fatorial 3 x 5, sendo três idades de corte (28, 56 e 84 dias) e cinco doses de P (20, 200, 400, 600 e 800 mg/dm³) e as leguminosas a um esquema fatorial 2 x 5, sendo duas idades de corte (60 e 90 dias) e cinco doses de P (100, 200, 400, 600 e 800 mg/dm³ de P). Foram confeccionadas e fotomicrografadas lâminas de folhas e caules e os tecidos foram mensurados com o uso do *software* ImageTool. Determinou-se a produção de matéria seca (MS) e os teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, a digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) e as concentrações P, K, Ca, Mg, Cu, Mn e Zn. As doses de P e as idades de corte proporcionaram incrementos na produção de MS, teores de P e redução na DIVMS e PB em todas as espécies. Na *B. brizantha* houve aumento nas áreas do esclerênquima (ESC) e metaxilema (MET) e redução da espessura do mesofilo (MES) nas folhas, e nos caules, na distância entre feixes, e entre epiderme e ESC, e na espessura de ESC. As correlações foram positivas entre o MET e FDA; MES, células buliformes e bainha parenquimática dos feixes com a DIVMS e PB; e negativas entre floema, MET e ESC e PB. Nos caules houve correlação negativa do diâmetro do caule, ESC e área do feixe vascular com PB, e de distância entre feixes com DIVMS; e correlação positiva entre diâmetro do caule, distância entre feixes e ESC com FDA. Em *C. mucunoides* houve aumento na espessura da epiderme abaxial, do ESC e do MES da folha, e no caule houve aumento na espessura do ESC, epiderme e distância epiderme e ESC; redução nos teores de K e Cu e correlação positiva entre FDN, FDA com espessura da epiderme abaxial e da FDA com a distância entre epiderme e ESC. A *P. phaseoloides* apresentou correlação positiva entre FDN e esclerênquima e entre epiderme abaxial da nervura central da folha e a DIVMS. Nos caules houve aumento na espessura da epiderme e na distância entre epiderme e ESC. Ocorreram correlações positivas entre diâmetro do caule e distância entre epiderme e ESC com a FDN e a FDA.

Palavras-chave: Digestibilidade. Esclerênquima. *Brachiaria brizantha*. *Pueraria phaseoloides*. *Calopogonium mucunoides*. Cálcio.

ABSTRACT

To evaluate the effects of P and cutting age in the anatomy and nutritive value of leaves and stems of *Brachiaria brizantha* Stapf cv. Marandu *Pueraria phaseoloides* and *Calopogonium mucunoides*, were conducted a trial with completely randomized design with four replications. The grass was subjected to a 3 x 5 factorial scheme, three cutting ages (28, 56 and 84 days) and five P rates (20, 200, 400, 600 and 800 mg/dm³) and the legumes a 2 x 5 factorial, with two cutting ages (60 and 90 days) and five P rates (100, 200, 400, 600 and 800 mg/dm³ P). Were made and photomicrographed blades of leaves and stems and tissues were measured using the software ImageTool. Determined to dry matter production, crude protein level (CP), levels of neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), lignin, in vitro dry matter (IVDMD) and P, K, Ca, Mg, Cu, Mn and Zn concentrations. The P and cutting ages provided increments in DM, P and reduction in IVDMD and CP in all species. In *B. brizantha* increased in the areas of sclerenchyma (SCL) and metaxylem (MET) and reduced the thickness of the mesophyll (MES) in the leaves and stems, the distance between bundle sheath and between the epidermis and SCL, and thickness of SCL. Correlations were positive between the MET and ADF; MES, bulliform cells and bundle sheath cells with IVDMD and CP, and negative associations between phloem, MET and SCL and CP. Negative correlation was observed in stems of stem diameter, SCL and the vascular area with CP, and IVDMD with distance between beams, and a positive correlation between stem diameter, distance between beams and SCL with the FDA. In *C. mucunoides* increased thickness of the lower epidermis, SCL and MES of the leaf and stem increased the thickness of the SCL, the epidermis and epidermis and SCL distance, the reduction of K and Cu and a positive correlation between NDF, with thickness the lower epidermis and the FDA to the distance between the epidermis and SCL. The *P. phaseoloides* showed positive correlation between NDF and sclerenchyma and between the abaxial midrib of the leaf and IVDMD. In shoots was no increase in epidermal thickness and the distance between the epidermis and ESC. There were positive correlations between stem diameter and distance between the epidermis and ESC with the NDF and ADF.

Keywords: Digestibility. Sclerenchyma. *Brachiaria brizantha*. *Pueraria phaseoloides*. *Calopogonium mucunoides*. Calcium.

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	11
1	INTRODUÇÃO GERAL	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	A importância do fósforo para as forrageiras	13
2.2	Anatomia e valor nutritivo	14
2.3	As espécies estudadas	15
	REFERÊNCIAS	18
	SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	21
	ARTIGO 1 Produção, anatomia e valor nutritivo de folhas e caules de capim-marandu em resposta a fósforo e idade.....	21
	ARTIGO 2 Composição químico-bromatológica e anatômica de folha e caule de <i>Pueraria phaseoloides</i> Benth em resposta a fósforo e idades.....	77
	ARTIGO 3 Avaliações de produção, anatomia e valor nutritivo de folha e caule de <i>Calopogonium mucunoides</i> Desv. em resposta a fósforo e idades.....	112

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

Um dos maiores problemas no estabelecimento e na manutenção de pastagens, nos solos brasileiros, reside nos níveis extremamente baixos de fósforo (P) disponível e total. Os especialistas em fertilidade do solo acrescentam a essa pobreza natural dos solos em P a alta capacidade de adsorção desse elemento, em consequência de sua acidez e dos teores elevados de óxidos de ferro (Fe) e alumínio (Al). Além disso, tem-se que a absorção de nitrogênio (N) pelas plantas é restringida pela deficiência de P (NOVAIS; BARROS, 1997; NOVAIS et al., 1985).

É natural que, em tais circunstâncias, a adubação fosfatada seja importante. Daí a necessidade fundamental de se saber combinar as espécies forrageiras mais adequadas com as doses, fontes e formas mais convenientes de se efetuar a adubação fosfatada.

O capim-Marandu [*Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf] e as leguminosas Puerária (*Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth) e Calopogônio (*Calopogonium mucunoides* Desv.) são muito utilizadas em praticamente todo o Brasil em decorrência da excelente adaptação às condições agroecológicas e ao elevado potencial produtivo, sobretudo em regiões com elevada temperatura e alta precipitação pluvial.

Apesar das pastagens formadas por gramíneas tropicais apresentarem alto potencial de produção, seu valor nutritivo cai rapidamente com a maturidade, sobretudo no período seco do ano, conseqüentemente restringindo a produtividade animal e a sustentabilidade dos sistemas. Uma das opções para minimizar esse problema é a introdução de leguminosas no sistema de produção por apresentarem melhor valor nutritivo em relação às gramíneas. Além disso, o

uso de leguminosas é o meio mais econômico de se introduzir N nas pastagens. Isto é essencial naqueles sistemas de produção animal onde os retornos econômicos não são suficientes para justificar o emprego de fertilizantes.

As leguminosas Puerária e Calopogônio tem sido recomendada para a formação de pastagens consorciadas, especialmente na Região Norte do Brasil (CARVALHO et al., 2007; VALENTIM; CARNEIRO, 2000; VALENTIM; MOREIRA, 1994).

De acordo com Akin, Wilson e Windham (1983) a digestibilidade da matéria seca (MS) de gramíneas tropicais não é resultante somente em função da proporção de cada tecido, mas da digestibilidade dos diversos tecidos. A celulose e a hemicelulose são, dentre os constituintes da parede celular dos tecidos, a maior fonte de substrato disponível para fermentação no rúmen e constituem a principal fonte de energia para o ruminante. No entanto, a lignificação que ocorre em função do processo de maturação influencia a digestibilidade dessas substâncias.

O estudo comparativo da anatomia com o valor nutritivo das forrageiras permite delinear sistemas mais eficientes de produção, pois a proporção dos tecidos pode explicar valores qualitativos das forragens. Algumas informações já existem sobre a anatomia do capim-Marandu, no entanto as leguminosas Puerária e o calopogônio ainda não foram estudadas neste sentido.

Portanto, o objetivo da condução deste trabalho foi avaliar as características produtivas, anátomo-qualitativas de folhas e colmo do capim-Marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) e das leguminosas calopogônio (*Calopogonium mucunoides*) e puerária (*Pueraria phaseoloides*) cultivadas em vasos, sob doses de P e idades de corte.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A importância do fósforo para as forrageiras

De maneira geral, os solos brasileiros destinados às pastagens apresentam baixíssima disponibilidade de P, em função, dentre outros fatores, da capacidade de adsorção desse nutriente. Dessa forma, têm sido observadas respostas das gramíneas à adubação fosfatada, mesmo aquelas do gênero *Brachiaria*, especialmente no estabelecimento das pastagens (WERNER, 1994). Entretanto, apesar de responsivas e capazes de se desenvolverem em solos com baixos teores de P disponível, algumas espécies do gênero *Brachiaria* não requerem, segundo Pereira (1987), doses superiores a 45 kg/ha de P_2O_5 . Esse autor salienta que, por apresentarem baixos requerimentos internos de P, as braquiárias não satisfazem as necessidades dos animais deste elemento.

A utilização de fósforo promove maior produção de MS da parte aérea e tanto o crescimento quanto as produções são limitadas pela falta deste nutriente no estabelecimento das plantas (MACIEL et al., 2007; RAMOS et al., 1997)..

Em *Brachiaria decumbens* a aplicação de P elevou as concentrações de P, PB e os valores de DIVMS e reduziu as concentrações de FDN na MS (MESQUITA et al., 2002)

Santos et al. (2002) observaram que com a idade ocorre aumento gradativo da eficiência nutricional das plantas com maiores ganhos na eficiência de aquisição e translocação e ou utilização de fósforo, e isto acarreta redução nos valores críticos de P na parte aérea.

Segundo Wilson (1976), redução nos teores de P das folhas de mesma idade fisiológica relaciona-se aos aumentos da lignificação, da proporção de esclerênquima e de tecidos vasculares e com a diminuição do tamanho médio do mesofilo.

2.2 Anatomia e valor nutritivo

Estudos avaliando a correlação da anatomia das forrageiras com o seu valor nutritivo têm sido desenvolvidos nas últimas décadas (AKIN, 1989; QUEIROZ; GOMIDE; MARIA, 2000). Avanços nessa área foram possíveis graças às novas técnicas utilizadas em microscopias óptica e eletrônica (ENGELS, 1996). Esses estudos estabeleceram diferenças no potencial de digestão dos diferentes tecidos, possibilitando a associação entre a proporção de tecidos nos órgãos de espécies forrageiras e o valor nutritivo.

Recentemente, trabalhos têm evidenciado que a baixa digestão de alguns tecidos pode estar mais relacionada aos aspectos físicos dos tecidos, destacando-se a elevada espessura da parede celular, do que às características químicas como os teores de lignina (BAUER et al., 2008).

Quanto à morfologia e anatomia, as gramíneas são constituídas por um complexo arranjo de folhas, colmos, inflorescências e raízes; cada fração é formada de tecidos designados para funções específicas. Tecidos individuais diferem química e fisicamente, dependendo de seu papel de assimilação, transporte, sustentação, acúmulo de reservas, etc. A organização estrutural ou anatômica dos órgãos da planta e seus tecidos, além de influenciarem sobre o consumo da forragem pelo animal, em razão do efeito que produzem sobre a facilidade de fragmentação das partículas da forrageira, a natureza das partículas produzidas e a sua taxa de passagem pelo rúmen, alteram também sobre a digestibilidade da parede celular, proporcionando maior ou menor acessibilidade de seus polissacarídeos aos microrganismos do rúmen (WILSON, 1993).

A proporção de tecidos é mais comumente medida como a área relativa em seções transversais das frações da planta. Segundo Wilson (1993), em virtude do arranjo paralelo longitudinal das principais estruturas de tecidos, essas medidas aproximam-se bem do volume de cada tipo de tecido, exceto para

folhas de leguminosas, em função de sua venação reticulada. Embora não haja grande número de trabalhos explorando tais correlações, resultados apresentados por Wilson, Mertens e Hatfield (1993) mostram correlações altamente significativas entre as frações nutritivas e proporções de tecidos.

De modo geral, a proporção de mesofilo correlaciona-se positivamente com a digestibilidade e negativamente com a espessura da parede celular. Por outro lado, as proporções de bainha parenquimática dos feixes, tecido vascular e esclerênquima, ao contrário, correlacionam-se negativamente com a digestibilidade e positivamente com o teor de parede celular. A epiderme não tem apresentado correlações consistentes. Assim, parece bastante evidente o papel desempenhado pelas características anatômicas sobre o aproveitamento das forrageiras pelos ruminantes e outros herbívoros.

2.3 As espécies estudadas

A gramínea *Brachiaria brizantha* é originária da África Tropical, ocorrendo até na África do Sul. Essa espécie foi estudada, inicialmente, pela Embrapa Gado de Corte (MS) e, posteriormente, pela Embrapa Cerrados (DF) (NUNES et al., 1985), resultando na liberação da cv. Marandu. É planta cespitosa, ereta, com 1,5 - 2,5 m de altura, sendo a espécie de maior porte dentre as braquiárias cultivadas como forrageiras no Brasil. Possui colmos cilíndricos, estriados, glabros, verdes com nós mais claros. O perfilhamento geralmente não é intenso. O sistema basilar é formado por rizomas curtos, com menos de 5 cm, retos ou recurvados, recobertos por escamas (catáfilos) amarelas e brilhantes. As raízes são fasciculadas. As folhas possuem bainhas quase fechadas, em geral densamente pilosas com pêlos longos e esbranquiçados.

Desenvolve-se na maioria dos solos, inclusive ácidos, mas requer um índice pluviométrico acima de 500 mm de chuvas por ano. A cultivar apresenta

porte quase ereto, enraíza muito pouco nos nós, adapta-se a regiões mais ou menos úmidas, desde o nível do mar até mais de 3.000 m de altitude. É moderadamente tolerante à seca, desenvolve-se bem em solos não úmidos, sendo tolerante ao frio, resistente ao ataque de cigarrinhas e possui bom valor forrageiro e alta produção de massa verde e baixa produção de sementes (SKERMAN; RIVEROS, 1990).

A leguminosa *Calopogonium mucunoides* é da América do Sul, América Central e Índia Ocidental. No início do século XX a espécie foi introduzida na África Central e Ásia (ALLEN; ALLEN, 1981; ANDRADE; SOUZA; VILLAÇA, 1970; BOGDAN, 1977; SKERMAN, 1977).

As plantas são herbáceas e perenes, com hábito de crescimento decumbente ou trepador, densamente cobertas com pêlos de coloração ferruginosa. As folhas possuem três folíolos, com 4 a 10 cm de comprimento, 2 a 5 cm de largura e forma variando de elíptica a oval, inflorescência em ráculos grandes e axilares. As flores são pequenas, com corola azul de 7 a 10 mm de comprimento. As vagens são retas ou encurvadas, deiscentes, densamente cobertas com pêlos marrons e dispostas linearmente, com 2 a 4 cm de comprimento e 3,5 a 5 mm de largura, possuindo 5 a 8 sementes. As sementes, de coloração marrom-amarelada ou marrom-escura, apresentam de 2,5 a 4 mm de comprimento e 2,5 a 3 mm de largura, com 70.000 a 75.000 semente/kg (ALLEN; ALLEN, 1981; ANDRADE; SOUZA; VILLAÇA, 1970; SEIFFERT, 1982).

A leguminosa *Pueraria phaseoloides* é originária do Sudeste da Ásia, Malásia e Indonésia. Foi introduzida em outros países tropicais; é largamente cultivada nos trópicos, sendo frequentemente considerada uma espécie naturalizada nestas regiões (ALLEN; ALLEN, 1981; BOGDAN, 1977; PARETAS; SUÁREZ; VALDÉS, 1989; SKERMAN, 1977; TURRIATE, 1986).

No Brasil, a *P. phaseoloides* provavelmente foi introduzida para ser utilizada como cobertura do solo nos plantios de seringueira efetuados na Amazônia a partir da década de 40, e com maior intensidade nas décadas de 70 e 80. Atualmente, essa espécie ocorre de forma naturalizada ou cultivada, em praticamente toda a Região Norte. Essa leguminosa também é utilizada de forma menos acentuada em algumas áreas mais úmidas e quentes das Regiões Sudeste e Centro-Oeste (VALENTIM et al., 1984).

É herbácea, perene, estolonífera e bastante agressiva, com hábito de crescimento decumbente ou trepador e as hastes geralmente são cobertas com pêlos de uma coloração marrom-ferruginosa. As folhas possuem três folíolos ovais, inteiros ou com lóbulos, com comprimento de 5 a 12 cm e até 11 cm de largura. As flores estão dispostas em ráculos axilares, corolas de cor púrpura ou branca, com até 2 cm de comprimento. As vagens, com 10 a 20 sementes, são lineares, retas ou ligeiramente encurvadas, com até 11 cm de comprimento e 3 a 5 mm de largura. As sementes têm coloração marrom-escura, 3 a 3,5 mm de comprimento e 2 mm de espessura (ALLEN; ALLEN, 1981; BOGDAN, 1977; PARETAS; SUÁREZ; VALDÉS, 1989; SKERMAN, 1977; TURRIATE, 1986; VALENTIM et al., 1984).

REFERÊNCIAS

AKIN, D. E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. **Agronomy of Journal**, Madison, v. 81, n. 1, p. 17-25, Mar. 1989.

AKIN, D. E.; WILSON, J. R.; WINDHAM, W. R. Site and rate of tissue digestion in leaves of C3, C4, and C3/C4 intermediate Panicum species. **Crop Science**, Madison, v. 23, n. 1, p. 147-155, Mar. 1983.

ALLEN, O. N.; ALLEN, E. K. **The Leguminosae**: a source book of characteristics, uses and nodulation. London: MacMillan, 1981. 571 p.

ANDRADE, J. M. S.; SOUZA, R. M.; VILLAÇA, H. de A. Algumas considerações sobre o calopogônio (*Calopogonium mucunoides* Desv.). **Seiva**, Viçosa, MG, v. 30, n. 71, p. 103-107, 1970.

BAUER, M. O. et al. Características anatômicas e valor nutritivo de quatro gramíneas predominantes em pastagem natural de Viçosa, MG. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, n. 1, p. 9-17, jan./fev. 2008.

BOGDAN, A. V. **Tropical pasture and fodder plants**. New York: Logman, 1977. 475 p. (Tropical Agricultural Series).

CARVALHO, F. G. et al. Efeito sazonal e de sistemas de manejo com pastagens de *Brachiaria decumbens* Stapf sobre as características químicas num Argissolo Vermelho Amarelo. **Acta Scientiarum of Agronomy**, Maringá, v. 29, n. 1, p. 1-7, 2007.

ENGELS, F. M. Developments in application of light and scanning electron microscopy techniques for cell wall degradation studies. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, Wageningen, v. 44, n. 1, p. 357-373, Mar. 1996.

MACIEL, G. A. et al. Efeito de diferentes fontes de fósforo na *Brachiaria brizantha* cv. Marandu cultivada em dois tipos de solos. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 8, n. 2, p. 227-233, abr./jun. 2007.

MESQUITA, E. E. et al. Efeitos de métodos de estabelecimento de braquiária e estilosantes e de doses de calcário, fósforo e gesso sobre alguns componentes nutricionais da forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 31, n. 6, p. 2186-2196, nov./dez. 2002.

- NOVAIS, R. F.; BARROS, N. F. Sustainable agriculture and forestry production systems on acid soils: phosphorus as a case-study. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PLANT-SOIL INTERACTIONS AT LOW PH, 4., 1997, Belo Horizonte. **Proceedings...** Belo Horizonte: BSSS, 1997. p. 39-51.
- NOVAIS, R. F. et al. Absorção de fósforo e crescimento do milho com sistema radicular parcialmente exposto a fontes de fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 7, p. 749-754, jul. 1985.
- NUNES, S. G. et al. **Brachiaria brizantha cv. Marandu**. Campo Grande: EMBRAPA, 1985. 31 p. (Documentos, 21).
- PARETAS, J. J.; SUÁREZ, J. J.; VALDÉS, L. R. **Gramíneas y leguminosas comerciales y promisorias para la ganadería en Cuba**. Havana: Instituto de Investigaciones de Pastos Y Forrajes, 1989. 81 p.
- PEREIRA, J. P. Adubação de capins do gênero *Brachiaria*. In: ENCONTRO SOBRE CAPINS DO GÊNERO BRACHIARIA, 1., 1986, Nova Odessa. **Anais...** Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 1987. p. 117-196.
- QUEIROZ, D. S.; GOMIDE, J. A.; MARIA, J. Avaliação da folha e do colmo de topo e base de perfilhos de três gramíneas forrageiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 29, n. 1, p. 61-68, jan./mar. 2000.
- RAMOS, G. M. et al. Doses de fósforo na produção de gramíneas forrageiras em solos ácidos e de baixa fertilidade da região meio-norte do Brasil. **Pasturas Tropicales**, Cali, v. 19, n. 3, p. 24-27, 1997.
- SANTOS, H. Q. et al. Níveis críticos de fósforo no solo e na planta para gramíneas forrageiras tropicais, em diferentes idades. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 26, n. 1, p. 173-182, jan. 2002.
- SEIFFERT, N. F. **Leguminosas para pastagens no Brasil Central**. Brasília: EMBRAPA-DID, 1982. 131 p. (EMBRAPA-CNPGC. Documentos, 7).
- SKERMAN, P. J. **Tropical forage legumes**. Roma: FAO, 1977. 609 p. (Plant Production and Protection Series, 2).
- SKERMAN, P. J.; RIVEROS, F. T. **Tropical grasses**. Rome: FAO, 1990. 832 p.

TURRIATE, O. A. **Possibilidades de la utilización de leguminosas forrajeras para mejorar la productividad agrícola y ganadera en la selva peruana.**

Lima: IICA, 1986. 74 p. (Publicación Miscelánea, 670).

VALENTIM, J. F.; CARNEIRO, J. da C. *Pueraria phaseoloides* e *Calopogonium mucunoides*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 17., 2000, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2000. p. 359-390.

VALENTIM, J. F. et al. **Utilização de puerária na alimentação de bovinos.**

Rio Branco: EMBRAPA-UEAPE, 1984. 5 p. (EMBRAPA-UEPAE. Comunicado Técnico, 34).

VALENTIM, J. F.; MOREIRA, P. **Vantagens e limitações dos capins Tanzânia-1 e Mombaça para a formação de pastagens no Acre.** Rio Branco: EMBRAPA-CPAF, 1994. 3 p. (EMBRAPA-CPAF. Comunicado Técnico, 60).

WERNER, J. C. Adubação de pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE CALAGEM E ADUBAÇÃO DE PASTAGENS, 11., 1994, Nova Odessa. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1994. p. 209-222.

WILSON, J. R. Organization of forage plant tissues. In: JUNG, H. G. et al. (Ed.). **Forage cell wall structure and digestibility.** Madison: ASA-CSSA-SSSA, 1993. p. 1-32.

_____. Variation of leaf characteristics with levels of insertion on a grass tiller
II. **Anatomy Australian Journal of Agriculture Research**, Collingwood, v. 27, p. 355-364, 1976.

WILSON, J. R.; MERTENS, D. R.; HATFIELD, R. D. Isolates of cell types from sorghum stems: digestion, cell wall and anatomical characteristics. **Journal of Science and Food of Agriculture**, London, v. 63, n. 1, p. 407-417, Mar. 1993.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

**PRODUÇÃO, ANATOMIA E VALOR NUTRITIVO DE FOLHAS E
CAULES DE CAPIM-MARANDU EM RESPOSTA A FÓSFORO E
IDADE**

RESUMO

Objetivando avaliar o efeito de doses de fósforo e idades de corte na anatomia e valor nutritivo de folhas e caules de *Brachiaria brizantha* Stapf cv. Marandu, conduziu-se um experimento inteiramente casualizado com 4 repetições, em esquema fatorial 3 x 5, sendo 3 idades de corte (28, 56 e 84 dias) e 5 doses de P (20, 200, 400, 600 e 800 mg/dm³). Foram confeccionadas lâminas de folhas e caules e as secções fotomicrografadas. A mensuração dos tecidos foi feita com o uso do *software* de análise de imagens Image Tool, versão 1.3. Foram medidas nas folhas, as áreas do esclerênquima (ESC), da bainha parenquimática dos feixes (BPF), do metaxilema (MET), do floema, das células buliformes, espessura do mesofilo (MES), das epidermes e a distância entre feixes, e nos caules: áreas dos feixes vasculares, do floema, do metaxilema; distâncias entre epiderme e esclerênquima e entre feixes vasculares, espessuras de epiderme e de esclerênquima. Determinou-se a produção de MS, e os teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, a digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) e as concentrações P, K, Ca, Mg, Cu, Mn e Zn. O aumento nas doses de P e nas idades de corte proporcionou incrementos na MS, e níveis de P e Ca e redução na DIVMS e PB. Houve aumento nas áreas de ESC e MET e redução do MES com aumento das epidermes; nos caules, aumentou a distância entre feixes, e entre epiderme e ESC, e a espessura de ESC. Nas folhas, as correlações foram positivas entre o MET e FDA; mesofilo, células buliformes e BPF com a DIVMS e PB; e foram negativas entre floema, MET e ESC e PB. Nos caules, correlação significativa negativa do diâmetro do caule, ESC e área do feixe vascular com PB, e de distância entre feixes com DIVMS; e correlação positiva entre diâmetro do caule, distância entre feixes e ESC com FDA.

Palavras-chave: Digestibilidade. Proteína. Esclerênquima. Epiderme. Cálcio.

ABSTRACT

To evaluate the effects of P and cutting ages in the anatomy and nutritive value of leaves and stems of *Brachiaria brizantha* Stapf cv. Marandu, was conducted a experiment in completely randomized design with four replications in a factorial scheme 3 x 5, 3 cutting ages (28, 56 and 84 da^Ês) and five P rates (20, 200, 400, 600 and 800 mg/dm³). Slides were made of leaves and stems, the sections were photographed. The measurement of tissue was performed using the Image Analysis Software, Model Image Pro Plus, version 1.3. Were measured in leaves, the areas of sclerenchyma (ESC), of the parenchyma bundle sheath (PBS), the metaxylem (MET), the phloem, bulliform cells, thickness of mesophyll (MES) of the epidermis and the bundle sheath distance, and in stems, areas of vascular bundles, the phloem, the metaxylem; epidermis and sclerenchyma distance and bundle sheath distance, thickness of epidermis and sclerenchyma. Was determined dry matter production DM, the levels of crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), lignin, in vitro dry matter (IVDMD) and P, K, Ca, Mg, Cu, Mn and Zn concentrations. The increase in P levels and ages of harvest increased the DM, P and Ca levels and reduced the IVDMD and CP. There was an increase in the areas of ESC and MET, the thickness of MES and reduced with increase of epidermis, in shoots, increased the bundle sheath distance and epidermis and ESC distance, and the thickness of ESC. In leaves, the correlations were positive between the MET and ADF; mesophyll, bulliform cells with IVDMD and CP, and were negative between phloem, MET and ESC and CP. In stems, a negative correlation of stem diameter, ESC and the bundle sheath area with CP, and IVDMD with bundle sheath distance, and a positive correlation between stem diameter, bundle sheath distance and ESC with the ADF.

Keywords: Digestibility. Protein. Sclerenchima. Epidermis. Calcium.

1 INTRODUÇÃO

A baixa disponibilidade de fósforo (P) e a alta saturação de alumínio (Al) são os fatores químicos que limitam com mais intensidade a produção forrageira nos solos ácidos tropicais. A deficiência de P no solo, além de comprometer o valor nutritivo da forragem, tem efeito sobre o estabelecimento e desenvolvimento das plantas forrageiras (MOREIRA; LOURDES; THIÉBAU, 1979).

A *Brachiaria brizantha* é uma das espécies forrageiras mais cultivadas em pastagens no Brasil. Conforme Corrêa e Haag (1993) o nível crítico de P para essa espécie está em torno de 0,12 mg/dm³. Dessa forma, têm sido observadas respostas das gramíneas do gênero *Brachiaria* à adubação fosfatada (WERNER, 1994). Esse autor salienta que, por apresentarem baixos requerimentos internos de P, as braquiárias não satisfazem as necessidades dos animais. Alguns trabalhos demonstram que a aplicação de doses de P₂O₅ em pastagens formadas por gramíneas forrageiras pode promover incrementos na produção de MS com doses acima de 50 kg/ha de P₂O₅ (COUTO et al., 1997; COSTA et al., 2000).

Estudos avaliando a correlação da anatomia das forrageiras com o seu valor nutritivo têm sido desenvolvidos nas últimas décadas (AKIN, 1989; QUEIROZ; GOMIDE; MARIA, 2000; WILSON; DEINUM; ENGELS, 1991). Esses estudos estabeleceram diferenças no potencial de digestão dos diferentes tecidos, possibilitando a associação entre a proporção de tecidos nos órgãos de espécies forrageiras e o valor nutritivo. Recentemente, trabalhos têm evidenciado que a baixa digestão de alguns tecidos pode estar mais relacionada a aspectos físicos dos tecidos, destacando-se a elevada espessura da parede celular, do que a características químicas como os teores de lignina (PACIULLO, 2002).

Gramíneas tropicais apresentam menor valor nutritivo quando comparadas com gramíneas temperadas, pois as altas temperaturas para o crescimento aceleram o espessamento da parede celular e induzem à lignificação sem causar mudanças marcantes na anatomia foliar (AKIN et al., 1987). Contudo, a maturidade pode provocar, além da lignificação da parede celular, aumento na proporção dos tecidos lignificados (BRITO; RODELLA; DESCHAMPS, 1999; PACIULLO, 2002).

Em estudos que avaliaram os efeitos da idade, do nível de inserção da folha no perfilho e da estação de crescimento (verão ou outono), sobre a proporção de tecidos e a espessura da parede celular em folhase segmentos de colmo de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*), capim-gordura (*Melinis minutiflora*) e capim-tifton 85 (*Cynodon* sp), Paciullo et al. (2002) verificaram diferenças na área ocupada por tecidos e na espessura da epiderme de esclerênquima.

Nas folhas de gramíneas, as células que apresentam alta digestibilidade são as de mesófilo (MES) e de floema (FLO), as de epiderme, abaxial (EPIABA) e adaxial (EPIADA), e de bainha parenquimática dos feixes (BPF), são parcialmente digeridas, já as de esclerênquima (ESC) e xilema (XIL), são indigestíveis. As espécies C4 apresentam menor proporção de MES, células da BPF bem desenvolvidas, alta frequência de feixes vasculares (WILSON; BROWN; WINDHAM, 1983) e um denso acondicionamento dos tecidos (HANNA; MONSON; BURTON, 1973), em relação às C3.

Em virtude da importância que os estudos anatômicos têm adquirido na avaliação da composição químico-bromatológica das espécies forrageiras, o objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de matéria seca, o valor químico-bromatológico e as dimensões dos tecidos de folhas e caules de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu sob doses de fósforo e idades de corte, bem como correlacionar os valores anatômicos com a composição químico-bromatológica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em vasos, em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo (DCS) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). A gramínea *Brachiaria brizantha* cv. Marandu foi cultivada em vasos de 4 dm³ em amostras de um Latossolo Vermelho distroférico, textura argilosa, cujas características químicas do solo foram: pH: 5,3; Ca: 0,3 mg/dm³; Mg: 0,1 mg/dm³; Al: 0,7 mg/dm³; Al+H: 7,0 mg/dm³; P: 1,4 mg/dm³; K: 16 mg/dm³; CTC: 7,4 mg/dm³; Cu: 1,2 mg/dm³; Zn: 0,3 mg/dm³; Mn: 1,7 mg/dm³; Fe: 25,8 mg/dm³; B: 0,1 mg/dm³; S: 9,3 mg/dm³; V: 5,9 %; MO: 2,4 dag.kg⁻¹; P-rem: 9,9 mg/L.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 3 x 5, sendo três idades de corte (28, 56 e 84 dias após o desbaste) e cinco doses de P (20, 200, 400 600 e 800 mg/dm³), na forma de sais P.A.

A acidez do solo foi corrigida com calcário dolomítico para elevar a saturação por bases para 60%. Uma adubação básica foi aplicada antes da semeadura e constou de 80 mg de N; 80 mg de K; 40 mg de S; 0,8 mg de B; 1,5 mg de Cu; 3,5 mg de Mn; 5,0 mg de Zn e 0,15 mg de Mo por dm³ de solo, usando-se fontes de sais P.A. As doses de fósforo foram aplicadas concomitantemente à adubação básica. Em seguida, foram semeadas 12 sementes da gramínea por vaso, desbastando-se para cinco plântulas aos 15 dias após a emergência. Foram aplicadas adubações em cobertura com 200 mg/dm³ de N e K, parceladas em quatro vezes, duas semanas antes de cada corte.

Em cada idade de corte, a parte aérea das plantas foi cortada ao nível do solo e mensurada a produção de matéria verde para estimar, posteriormente, a produção de matéria seca (MS) por vaso. As folhas foram utilizadas nas três idades supracitadas e os caules, aos 56 e 84 dias. Parte do material colhido foi

preparada para as análises anatômicas. O restante do material vegetal foi colocado em sacos de papel identificados e levados para estufa de circulação forçada de ar à temperatura de 55 – 60°C até peso constante, para a obtenção da produção da MS.

Foram coletadas folhas completamente expandidas, obedecendo ao padrão utilizado por Silva e Alquini (2003): para lâminas e bainhas foram retiradas amostras da porção mediana da terceira folha, contando a partir da folha bandeira e/ou folha mais jovem completamente expandida, no sentido basípeto; para caules ou colmos foram retiradas amostras da porção mediana do entrenó localizado imediatamente acima da inserção da terceira folha supramencionada. As folhas e caules amostrados foram fixados em solução de formaldeído, ácido acético e etanol 70% (JOHANSEN, 1940), por 48 horas e, em seguida, conservadas em etanol 70%.

Os cortes foram clarificados com hipoclorito de sódio a 5%, por 10 min, reidratados por 10 min, corados com safrablau (solução de safranina e azul de Astra 7,5:2,5) e montados em lâminas com glicerina 50% (KRAUS; ARDUIN, 1997). Foi utilizado microscópio óptico acoplado a uma câmera digital, com a qual foram realizadas fotografias dos cortes. Estas foram utilizadas para as medições dos parâmetros anatômicos, pelo programa de análise de imagem Image Tool (UTHSCSA, San Antonio, Texas, USA), calibrado com régua microscópica fotografada nos mesmos aumentos das fotografias.

As características anatômicas mensuradas nas folhas (Figura 1) foram: as áreas do esclerênquima, da bainha parenquimática dos feixes, do metaxilema, do floema, das células buliformes, espessura do mesofilo, das epidermes e a distância entre feixes, e nos caules (Figura 2) foram: áreas dos feixes vasculares, do floema, do metaxilema; distâncias entre epiderme e esclerênquima e entre feixes vasculares; espessuras de epiderme e de esclerênquima.

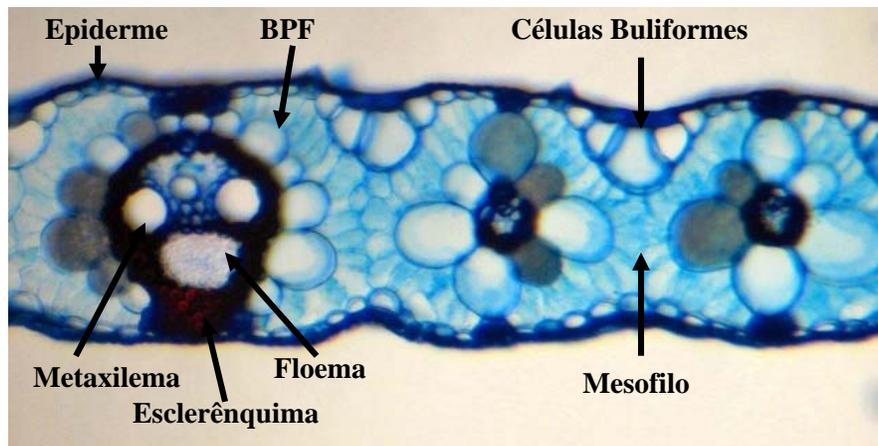


Figura 1 Fotomicrografia da secção transversal da folha de *B. brizantha* cv. Marandu, como é típico de planta C4 (composto por xilema e floema, rodeados por células da bainha do feixe, caracterizando anatomia de Kranz)

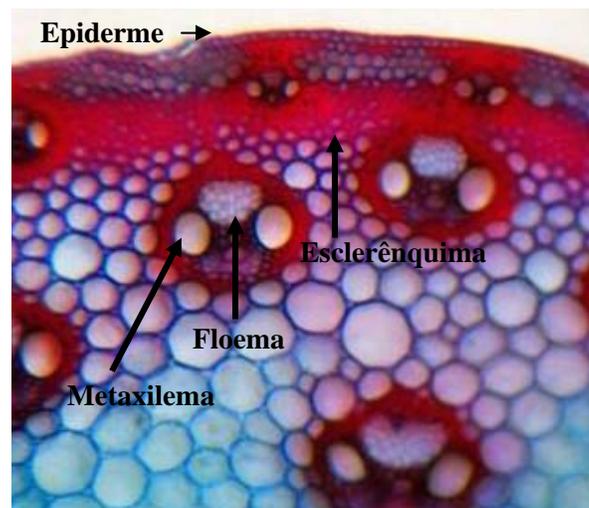


Figura 2 Fotomicrografia da secção transversal do caule de *B. brizantha* cv. Marandu

Foram realizadas análises bromatológicas de folha e colmo para determinação da concentração da matéria seca (MS) (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC, 1980), O teor de proteína

bruta (PB) foi determinado pelo método semi-micro Kjeldahl (AOAC, 1995), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), conforme metodologias descritas por Soest (1963); lignina conforme Soest e Wine (1968) e os valores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), conforme metodologia de Tilley e Terry (1963).

A determinação das concentrações P, K, Ca, Mg, Cu, Mn e Zn nas folhas e caules foram realizadas de acordo com a metodologia descrita em Malavolta, Vitti e Oliveira (1997).

Foi realizada a análise de variância dos dados pelo procedimento GLM do SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS INSTITUTE - SAS INSTITUTE, 1996) e as médias de idade das variáveis nas foram comparadas pelo Teste Tukey ($P < 0,05$) e as variáveis mensuradas no caule foram comparadas pelo Teste F ($P < 0,05$). As doses de P foram submetidas ao estudo de regressão e os modelos foram escolhidos de acordo com a lógica biológica, a probabilidade dos coeficientes angulares e o coeficiente de determinação. As variáveis anatômicas foram submetidas à correlação linear de Pearson com os valores de FDN, FDA, PB, lignina e DIVMS.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de matéria seca total da parte aérea e do colmo, o teor de proteína bruta e a DIVMS apresentaram resposta significativa ($P < 0,01$) para interação idade x dose. As produções de matéria seca da parte aérea e do colmo apresentaram aumentos quadráticos nas idades de 56 e 84 dias (Gráfico 1). A maior produção de matéria seca da parte aérea aos 56 dias foi 62,84 g/vaso, na dose 538 mg/dm³ de P e aos 84 dias foi 112,3, na dose 600 mg/dm³ de P. Quanto à produção de matéria seca do colmo, foram obtidos valores superiores aos 56 dias (24,7 g/vaso), na dose 500 mg/dm³ de P, e aos 84 dias (56,52 g/vaso), na dose 538 mg/dm³ de P. A produção média de MS das folhas ($P < 0,01$) aumentou quadraticamente com o incremento das doses de P, obtendo-se maior massa (31,5 g/vaso), na dose 500 mg/dm³ de P. (Gráfico 2). Aumentos lineares de MS de capim-Marandu com incremento de doses de P também foram observados por Ramos et al. (1997).

A produção de MS das folhas ($P < 0,01$), a FDN ($P < 0,01$), a FDA ($P < 0,01$), a lignina ($P < 0,05$) e a área do floema da nervura central ($P < 0,05$) aumentaram com o incremento das idades de corte (Tabela 1). Costa et al. (2007), avaliando intervalos de corte na composição químico-bromatológica de *B. brizantha* cv. MG-5 observaram acréscimos na massa seca do capim à medida que se aumentou o intervalo de corte de 15 para 60 dias, e diminuição no valor nutritivo com acréscimos nos teores de FDN e FDA que atingiram os valores de 70,82% e 36% na MS, respectivamente, e redução no teor de PB a 8,86% na MS.

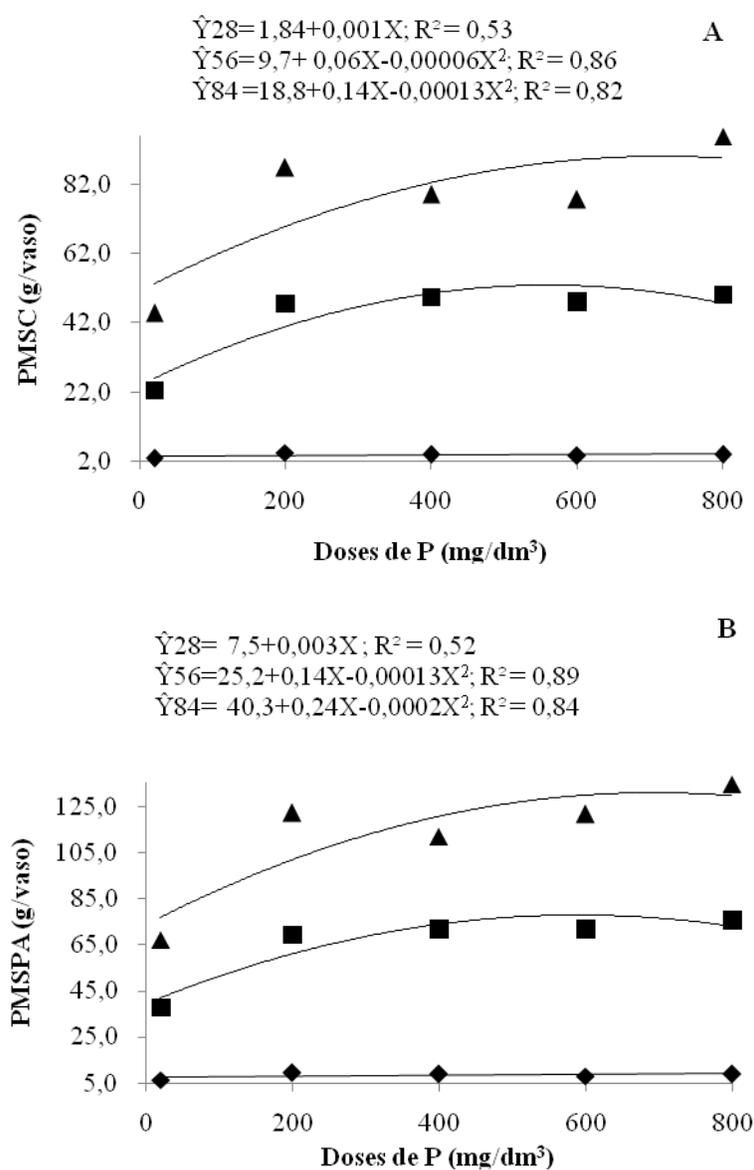


Gráfico 1 Produções de matéria seca do caule (PMSC) (A) e da parte aérea (PMSPA) (B) de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte [28 (◆), 56 (■) e 84 (▲) dias]

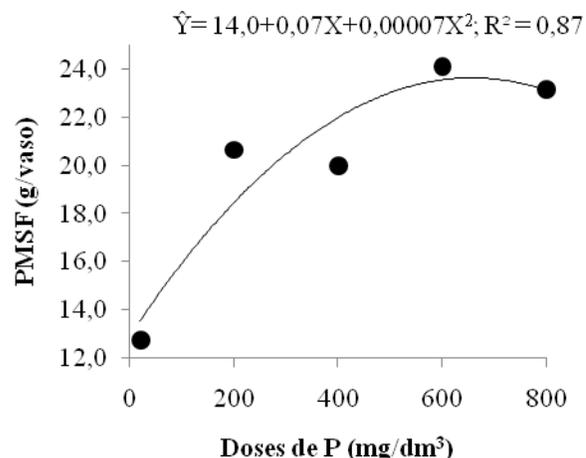


Gráfico 2 Produção de matéria seca das folhas (PMSF) de capim-Marandu sob doses de P, (● médias das idades)

Tabela 1 Produção de matéria seca da folha (PMSF), teores foliares de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina e área do floema da nervura central (FLONC) das folhas de capim-Marandu sob doses (D) de P e idades de corte (I)

Idade	Dose de P (mg/dm³)					Probabilidades		
	20	200	400	600	800	I	D	I x D
PMSF(g/vaso)								
28	3,5 c	4,7 c	4,8 c	4,5 c	5,0 c	<0,01	<0,01	0,08
56	12,4 b	21,9b	22,4b	23,9b	25,7b			
84	22,4 a	35,3a	32,9a	43,9a	38,9a			
FDN (% na MS)								
28	64,1b	58,2b	62,4b	62,5b	63,2b	<0,01	0,95	0,16
56	59,9b	67,0b	66,7b	63,4b	61,6b			
84	73,2a	68,9a	69,4a	70,2a	71,4a			
FDA (% na MS)								
28	24,8b	25,7b	26,0b	25,4b	25,7b	0,01	0,7	0,95
56	27,6a	26,3a	27,2a	28,7a	28,4a			
84	26,9ab	26,4ab	26,9ab	27,7ab	27,3ab			
Lignina (% na MS)								
28	4,4b	4,7b	4,3b	5,7b	4,3b	0,04	0,16	0,90
56	5,3a	5,4a	5,8a	5,7a	5,2a			
84	5,4ab	5,4ab	5,8ab	5,8ab	4,8ab			
FLONC(µm²)								
28	3004,2b	3505,2b	3425,7b	3636,9b	3553,0b	0,02	0,56	0,08
56	6319,0a	3340,6a	4765,5a	4157,7a	3676,2a			
84	3398,9ab	3863,7ab	4420,9ab	4193,2ab	3941,4ab			

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey P>0,05

Os valores de DIVMS e de PB reduziram quadraticamente em função das doses de P aplicadas, em todas as idades de corte avaliadas (Gráfico 3). A menor DIVMS, aos 28 dias (69,3%), foi obtida na dose 500 mg/dm³ de P, e aos 56 dias (53,6%), ocorreu na dose 250 mg/dm³ de P. Valores inferiores de PB aos 28 (10,54% na MS), 56 (10,85% na MS) e 84 dias (6,7% na MS) ocorreram nas doses 500, 370 e 333 mg/dm³ de P, respectivamente. O conteúdo de PB, FDN e FDA na MS produzida estão de acordo com os valores encontrados por Santos et al. (2008) que relatou na MS de capim-Marandu sob adubação fosfatada aos 28 dias, teores de 6,4% de PB, 64,6% FDN e 34,2% de FDA. De acordo com a Tabela Brasileira de Composição de alimentos para bovinos (VALADARES FILHO et al., 2006) esses valores estão dentro da faixa adequada para a forrageira estudada. Soest (1994) concluiu que 7% é o teor mínimo de PB para um bom funcionamento da microbiota ruminal.

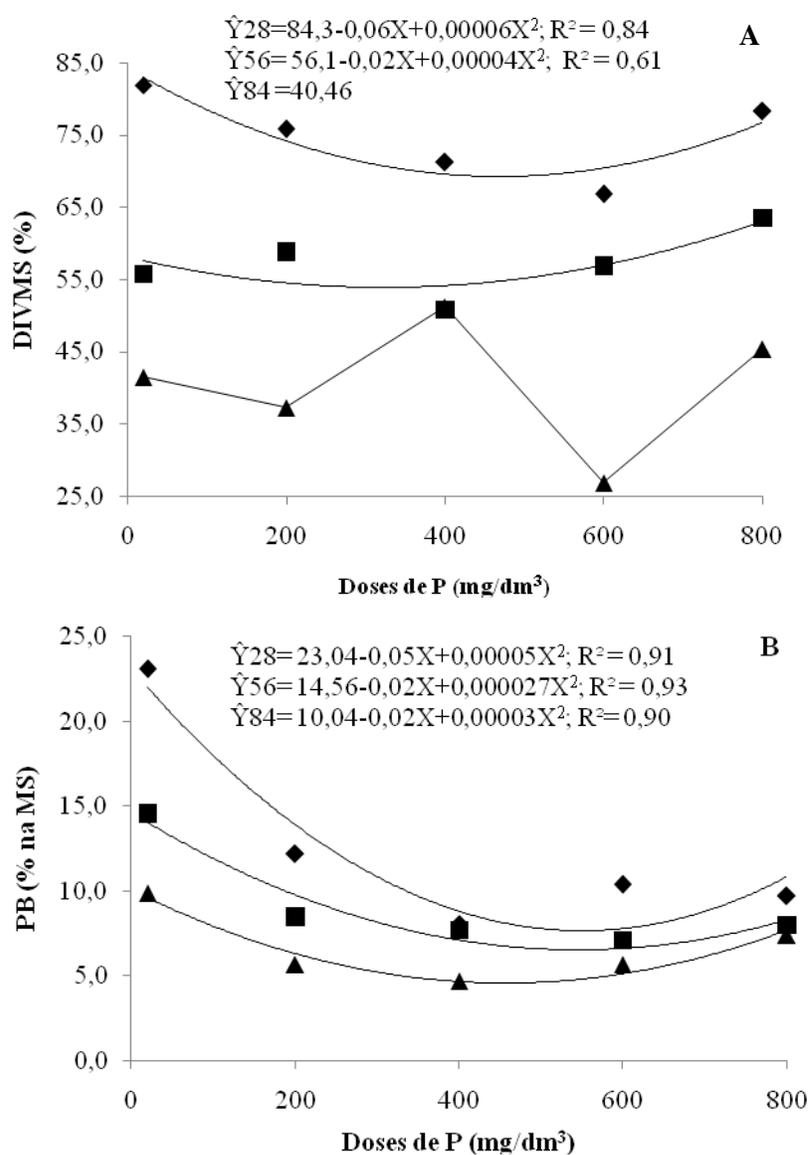


Gráfico 3 Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) (%) (A) e proteína bruta (PB) (% na MS) (B) de folhas de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte [28 (◆), 56 (■) e 84 (▲) dias]

As dimensões dos tecidos apresentaram variação com os tratamentos aos quais as plantas foram submetidas.

As áreas do esclerênquima ($P < 0,05$) e do metaxilema ($P < 0,01$) da nervura central responderam significativamente à interação idade x dose. Não houve ajuste na equação da área de esclerênquima aos 28 dias; aos 56 e 84 dias houve aumento quadrático em função das doses de P, obtendo-se áreas superiores aos 56 ($28.028,5 \mu\text{m}^2$) e 84 dias ($27.516,6 \mu\text{m}^2$), nas doses 524 e 466 mg/dm^3 de P, respectivamente. A área do metaxilema apresentou resposta linear positiva aos 84 dias, com incremento de $1,29 \mu\text{m}^2$ por mg/dm^3 de P aplicado, não havendo ajuste aos 56 e 84 dias (Gráfico 4).

Brito e Deschamps (1998), caracterizando anatomicamente frações de capim elefante não observaram aumento nas áreas dos tecidos lignificados no limbo, no entanto, esses tecidos somaram 26,9% na área região apical e 23,8% na região mediana das folhas. Em *Brachiarias*, Brito e Rodella (1999), verificaram aumento na lignificação dos tecidos do limbo no sentido apical-basal das folhas.

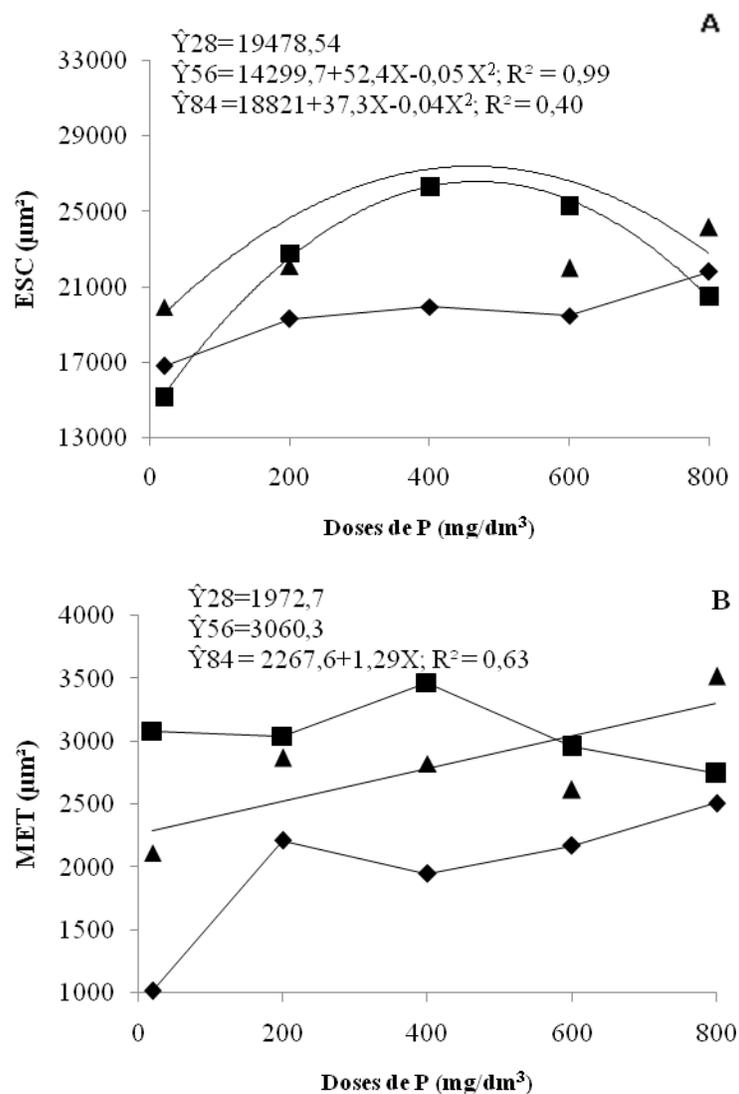
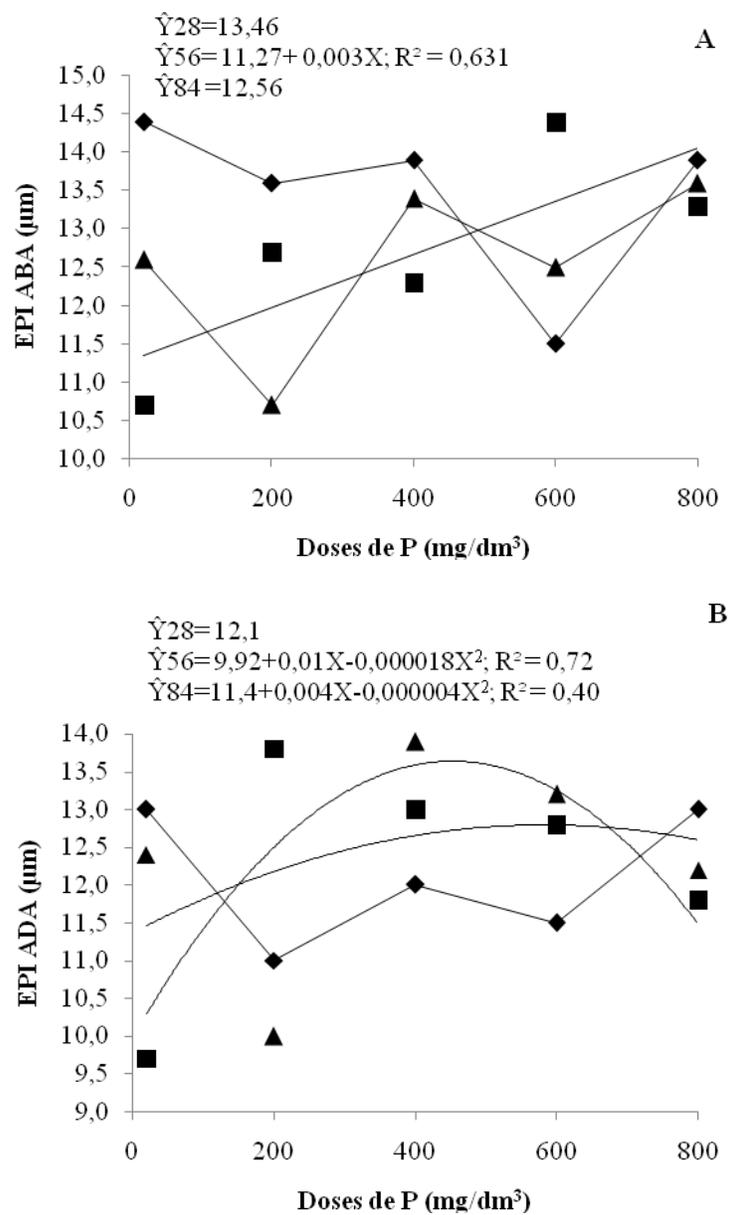


Gráfico 4 Áreas do esclerênquima (ESC) (A) e do metaxilema (MET) (B) da nervura central das folhas de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte [28 (♦), 56 (■) e 84 (▲) dias]

Houve efeito significativo para interação idade x dose para espessura das epidermes abaxial e adaxial da nervura central e do limbo ($P < 0,01$). Não houve ajuste nas equações de espessura da epiderme abaxial aos 28 e 84 dias; aumento linear foi observado aos 56 dias, com incremento de $0,003 \mu\text{m}$ por mg/dm^3 de P aplicado. A espessura da epiderme adaxial não apresentou ajuste aos 28 dias, no entanto, aos 56 e 84 dias houve aumento quadrático da espessura em função das doses de P, com valores máximos de 11,31 e $12,4 \mu\text{m}$, nas doses 278 e $500 \text{mg}/\text{dm}^3$ de P, aos 56 e 84 dias, respectivamente (Gráfico 5). Wilson (1994), explicou que em gramíneas tropicais a maturidade exerce grande influência sobre a espessura da parede celular das células epidérmicas, e que estas apresentam justaposição sinuosa, que aumenta a superfície de contato entre células adjacentes e dificulta o rompimento do tecido.

A espessura do limbo não apresentou ajuste aos 28 dias, no entanto, aos 56 e 84 dias observou-se aumento quadrático da espessura em função das doses de P. Observou-se na idade de 84 dias valor máximo ($466,7 \mu\text{m}$) na dose $600 \text{mg}/\text{dm}^3$ de P (Gráfico 6).



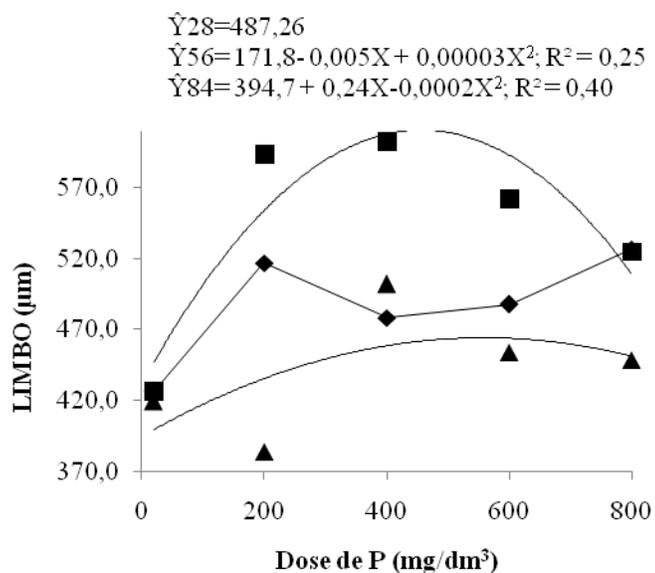


Gráfico 6 Espessura do limbo (LIMBO) da nervura central das folhas do capim-Marandu sob doses de P e idades de cortes [28 (◆), 56 (■) e 84 (▲) dias]

A área das células buliformes apresentou efeito significativo para a interação idade x dose ($P < 0,01$). Aos 28 dias houve redução quadrática da área, cuja menor área ($12.963,5 \mu\text{m}^2$) ocorreu na doses 357 mg/dm^3 de P. Aos 56 e 84 dias a equação não apresentou ajuste (Gráfico 7). A redução na área das células buliformes pode ser justificada por que essas células são responsáveis pelo desenrolamento das folhas novas, portanto, com o aumento da idade da folha não se justifica a necessidade da presença deste tecido.

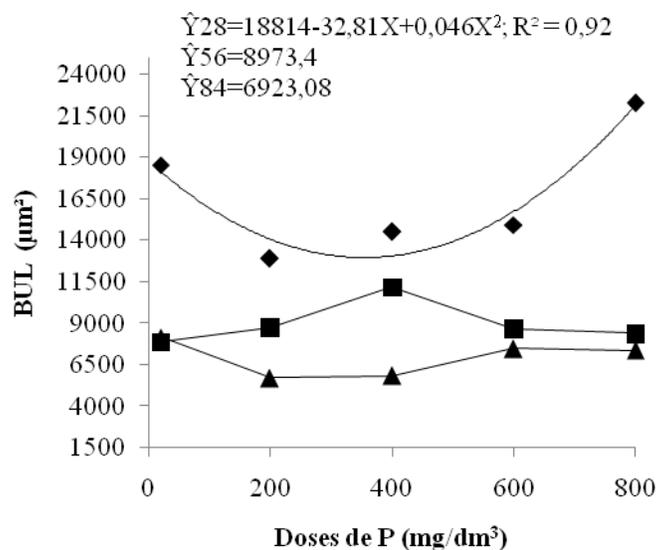


Gráfico 7 Área das células buliformes (BUL) das nervuras de menor calibre das folhas de capim-Marandu sob doses de P e idades de cortes [28 (◆), 56 (■) e 84 (▲) dias]

As espessuras do mesofilo (Gráfico 8) e das epidermes adaxial e abaxial da nervura de menor calibre das folhas de capim-Marandu (Gráfico 9) tiveram efeito significativo para interação idade x dose ($P < 0,01$). A espessura do mesofilo apresentou redução quadrática aos 28 e 56 dias, cujos menores valores foram 194,4 e 171,1 nas doses 380 e 84 mg/dm³ de P (28, 56 dias, respectivamente). A espessura da epiderme abaxial reduziu quadraticamente aos 28 dias, alcançando menor valor (20,8 µm) na dose 294 mg/dm³ de P; aos 84 dias ocorreu aumento quadrático com valor máximo (16,38 µm) na dose 455 mg/dm³ de P. A espessura da epiderme adaxial apresentou incremento linear, na ordem de 0,003 µm por mg/dm³ de P aplicado; aos 56 e 84 dias houve aumento quadrático, com maiores espessuras de epiderme (15,54 e 17,18 µm) nas doses 454 e 556 mg/dm³ de P, para 56 e 84 dias respectivamente. A redução na espessura do mesofilo pode ser explicada pelo aumento na espessura das

epidermes com as doses de P, Bauer et al. (2008) também verificaram redução na proporção de mesofilo devido a incrementos nas espessuras de epiderme em capim-gordura.

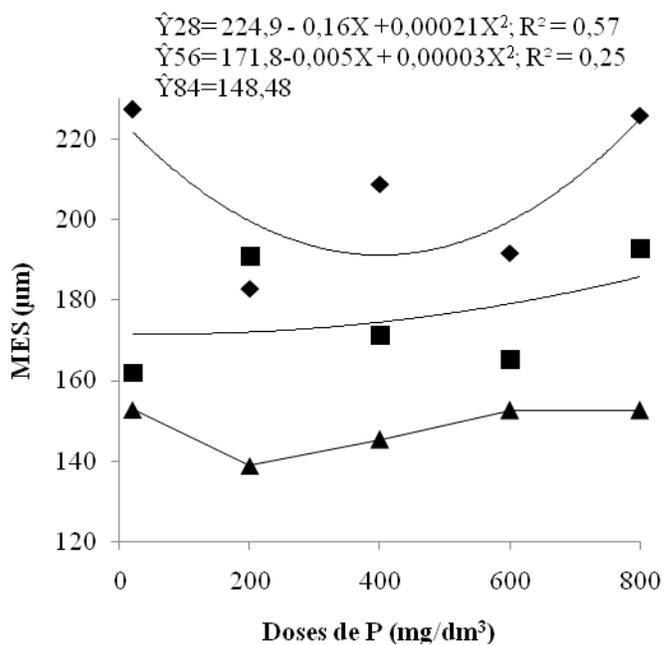


Gráfico 8 Espessura do mesofilo (MES) das nervuras de menor calibre das folhas de capim-Marandu sob doses de P e idades de cortes [28 (◆), 56 (■) e 84 (▲) dias]

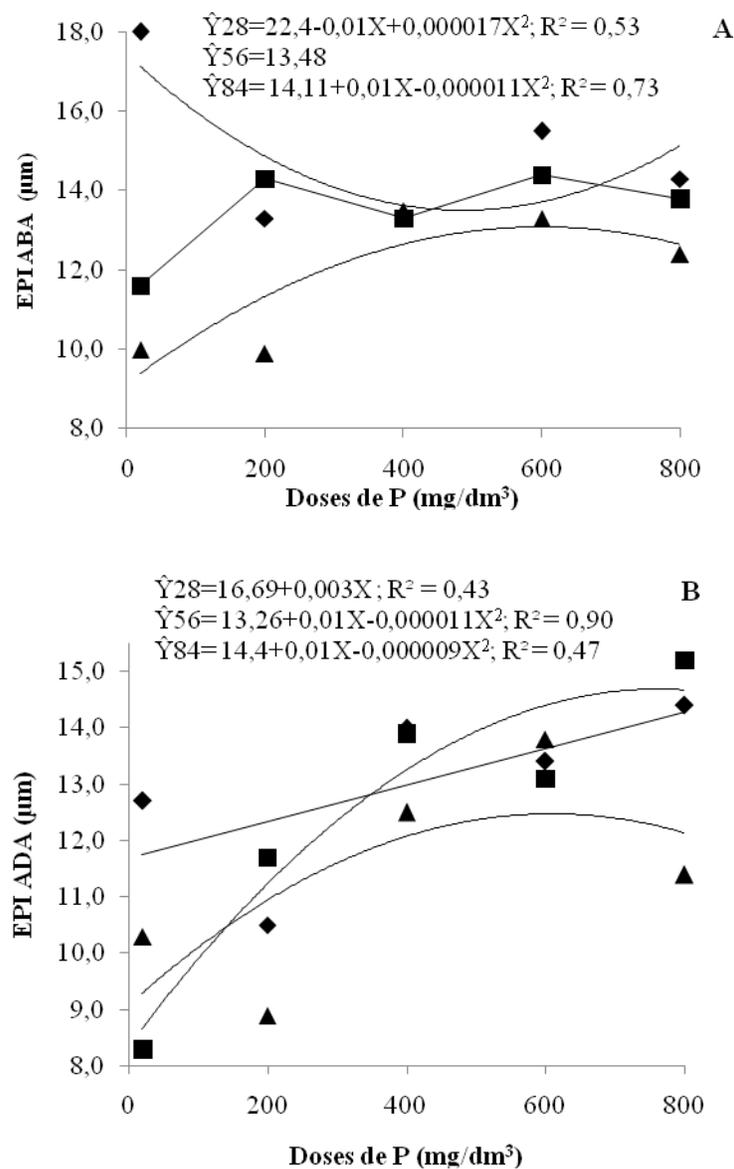


Gráfico 9 Espessuras das epidermes abaxial (EPIABA) (A) e adaxial (EPIADA) (B) das nervuras de menor calibre das folhas de capim-Marandu sob doses de P e idades de cortes [28 (♦), 56 (■) e 84 (▲) dias]

As áreas da bainha parenquimática do feixe, do metaxilema e do esclerênquima das nervuras de menor calibre das folhas de capim-Marandu responderam significativamente à interação idade x dose ($P < 0,01$) e a área do floema, às doses de P ($P < 0,01$).

A área da BPF reduziu quadraticamente aos 28 dias, em função das doses de P, cuja área mínima foi de $13.700 \mu\text{m}^2$, na dose 455 mg/dm^3 de P; aos 56 não houve ajuste na equação. Aos 84 dias a área da BPF aumentou linearmente $3,03$ por mg/dm^3 de P aplicado. A área do esclerênquima aumentou linearmente aos 28 dias, com incremento de $4,01 \mu\text{m}^2$ por mg/dm^3 de P aplicado; aos 56 dias houve resposta quadrática positiva, cuja maior área foi $9.244 \mu\text{m}^2$, na dose 445 mg/dm^3 de P (Gráfico 10).

A área média do floema apresentou resposta quadrática crescente, com máximo valor de $2.181 \mu\text{m}^2$, na dose 593 mg/dm^3 de P. A área do metaxilema apresentou efeito linear positivo nas idades de 28 e 84 dias, nos quais os incrementos foram de $0,9$ e $0,84 \mu\text{m}^2$ por mg/dm^3 de P aplicado, respectivamente. (Gráfico 11).

É provável que o aumento nas doses de P promovam um rápido crescimento e amadurecimento das folhas, por isso ocorre aumento nas áreas dos tecidos lignificados e no floema, que é um tecido de condução, pois aumenta a demanda por nutrientes. Paciullo et al. (2002) não verificaram resposta à idade na proporção de BPF e esclerênquima em folhas de capim-braquiária, no entanto, observaram que lâminas da posição superior apresentaram maior área de BPF. Neste mesmo estudo, houve aumento na espessura da parede dos vasos de metaxilema com o aumento da idade, com incrementos de $0,22 \mu\text{m}$ em *B. decumbens* e aumento da espessura da parede de células de esclerênquima em capim-Tifton 85 e capim-Gordura.

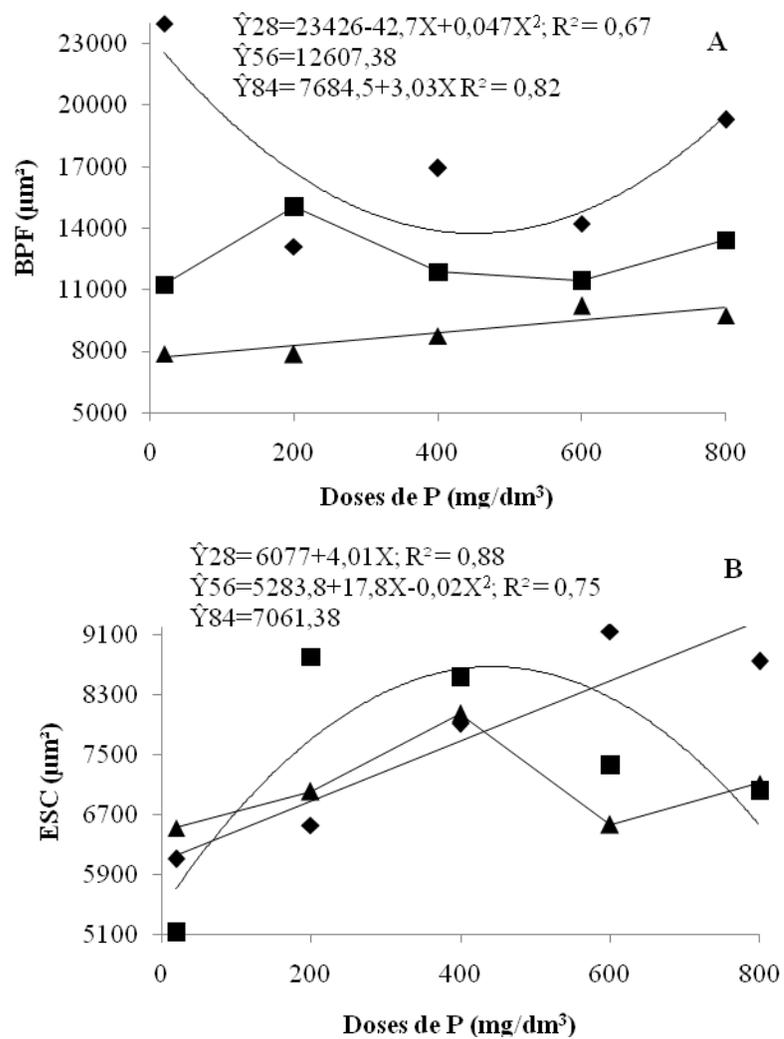


Gráfico 10 Áreas da bainha parenquimática do feixe (BPF) (A) e do esclerênquima (ESC) (B) das nervuras de menor calibre das folhas de capim-Marandu sob doses de P e idades de cortes [28 (♦), 56 (■) e 84 (▲) dias]

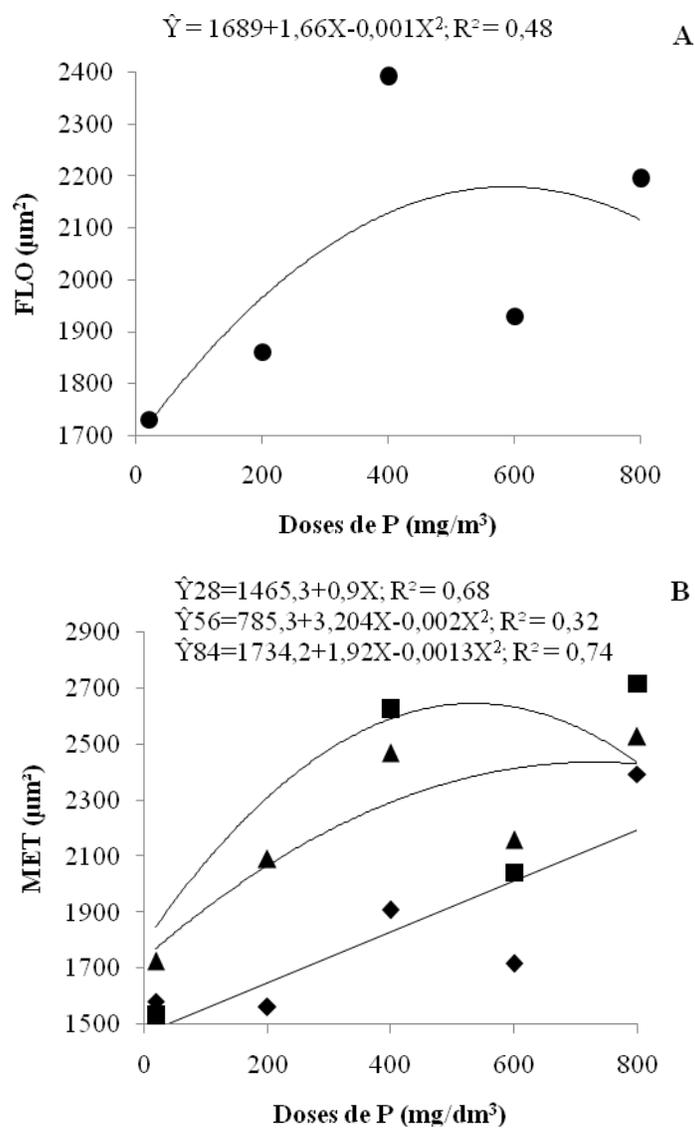


Gráfico 11 Áreas do floema (FLO) (A) e do metaxilema (MET) (B) das nervuras de menor calibre das folhas de capim-Marandu sob doses de P e idades de cortes [28 (◆), 56 (■) e 84 (▲) dias, (● médias das idades)]

As fotomicrografias das secções transversais das folhas de capim-Marandu (Figuras 3 e 4) mostram claramente as diferenças na espessura das epidermes e do mesofilo e das áreas de esclerênquima com as doses de P e idades. Observa-se na nervura de menor calibre a anatomia tipo Kranz, com os feixes vasculares sendo envolvidos pela bainha parenquimática dos feixes. As estruturas avermelhadas denotam a presença de lignina, uma vez que esta reage com o corante e fica vermelha. É possível observar maior lignificação aos 56 e 84 dias nas doses 20, 400 e 800 mg/dm³.

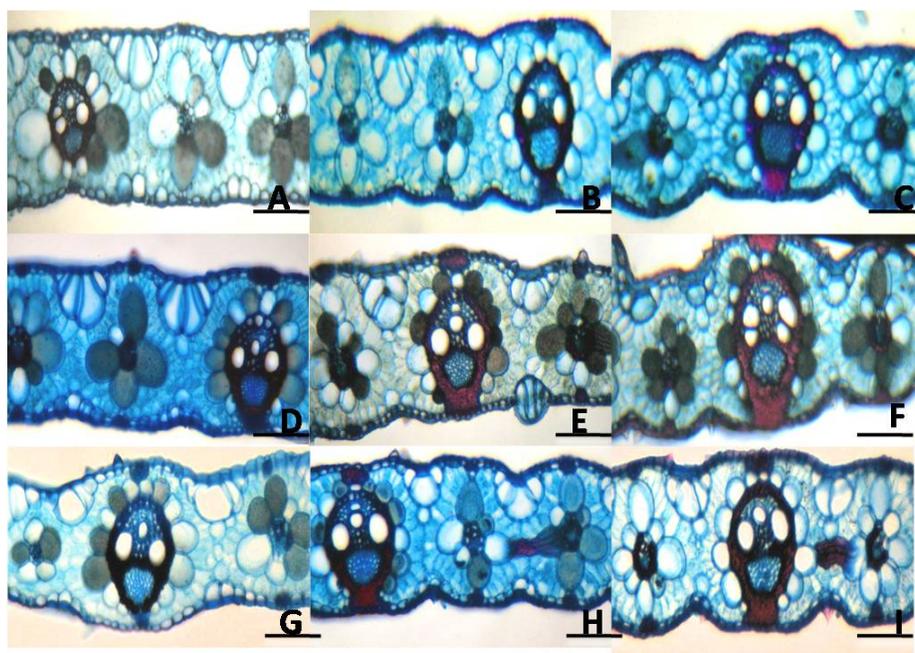


Figura 3 Fotomicrografias das secções transversais das folhas de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte. A (28 dias, 20mg/dm³ de P); B (56 dias, 20mg/dm³ de P); C (84 dias, 20mg/dm³ de P); D (28 dias, 400mg/dm³ de P); E (56 dias, 400 mg/dm³ de P); F (84 dias, 400mg/dm³ de P); G (28 dias, 800mg/dm³ de P); H (56 dias, 800 mg/dm³ de P); I (84 dias, 800mg/dm³ de P) (Barra de escala: 100 µm)

Observou-se o aumento na espessura do limbo foliar na nervura central das folhas de capim-Marandu. Também é possível visualizar maiores áreas lignificadas nas idades de 56 e 84 dias, principalmente ao redor dos feixes vasculares e nas epidermes (Figura 4).

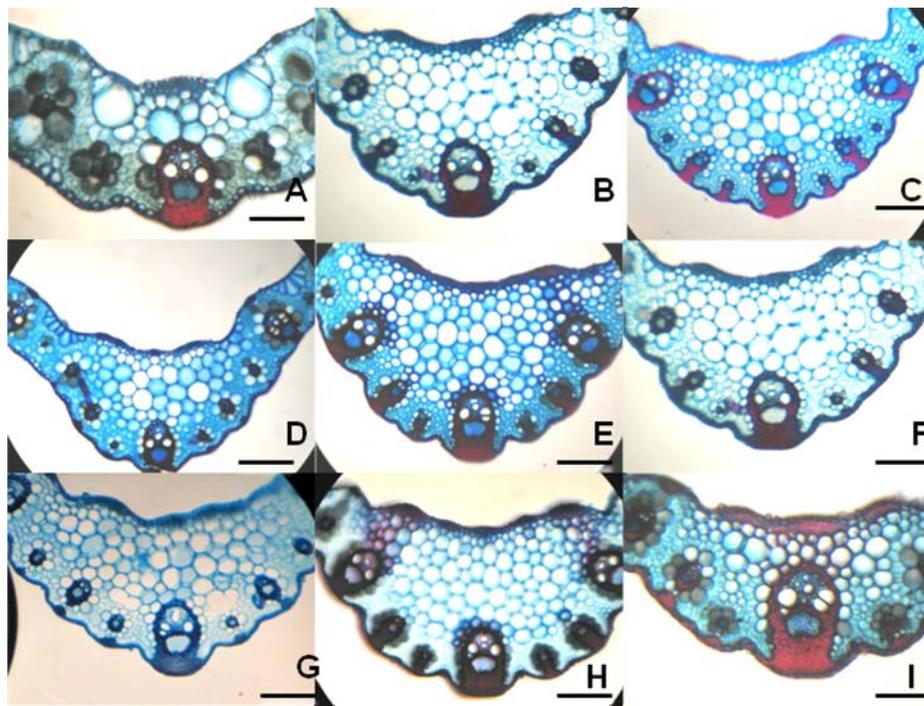


Figura 4 Fotomicrografias das secções transversais da nervura central das folhas de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte. A (28 dias, $20\text{mg}/\text{dm}^3$ de P); B (56 dias, $20\text{mg}/\text{dm}^3$ de P); C (84 dias, $20\text{mg}/\text{dm}^3$ de P); D (28 dias, $400\text{mg}/\text{dm}^3$ de P); E (56 dias, $400\text{mg}/\text{dm}^3$ de P); F (84 dias, $400\text{mg}/\text{dm}^3$ de P); G (28 dias, $800\text{mg}/\text{dm}^3$ de P); H (56 dias, $800\text{mg}/\text{dm}^3$ de P); I (84 dias, $800\text{mg}/\text{dm}^3$ de P) (Barra de escala: $100\ \mu\text{m}$)

Os teores foliares de P, Mg e Cu apresentarem efeito significativo para a interação idade x dose ($P < 0,01$). Para os elementos K, Ca e Zn houve resposta apenas às doses de P aplicadas. O teor de P aumentou linearmente com as doses de P, em todas as idades avaliadas, com incrementos de 0,02 g/kg por mg/dm^3 de P, aos 28 e 56 dias e de 0,01 g/kg por mg/dm^3 de P aplicado, aos 84 dias. Ramos et al. (1997) também observaram aumentos nos teores de P das plantas de *B. brizantha* com acréscimos nas doses de P no solo. O teor médio de K reduziu quadraticamente com o aumento das doses de P, com valor mínimo de 14,29 g/kg, na dose 583 mg/dm^3 de P (Gráfico 12). O teor de Mg apresentou aumento quadrático aos 28 dias com maior valor (3,4 g/kg), na dose 500 mg/dm^3 de P, aos 56 e 84 dias as equações não apresentaram ajustes. O Ca apresentou resposta quadrática crescente, com valor máximo de 3,88 g/kg, na dose 500 mg/dm^3 de P (Gráfico 13). Os teores de K, Mn e Zn reduziram com o aumento da idade de corte (Tabela 2). Todos os teores de P, Mg e Cu avaliados neste trabalho estão de acordo com os observados por Costa et al. (2007), cujos teores variaram de 1,6 a 1,8 g/kg para P; 3,01 a 3,22 g/kg para Mg e de 4,2 a 5,8 para Cu.

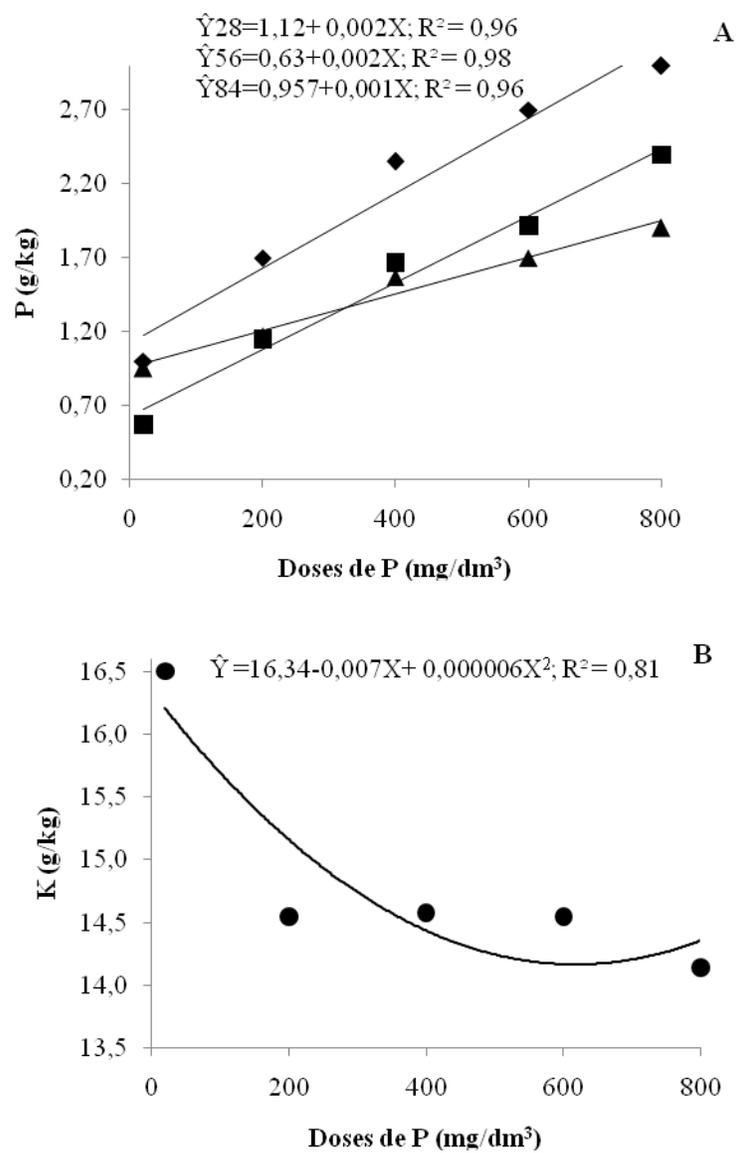


Gráfico 12 Teores de P (A) e K (B) em folhas de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte [28 (◆), 56 (■) e 84 (▲) dias, (● médias das idades)]

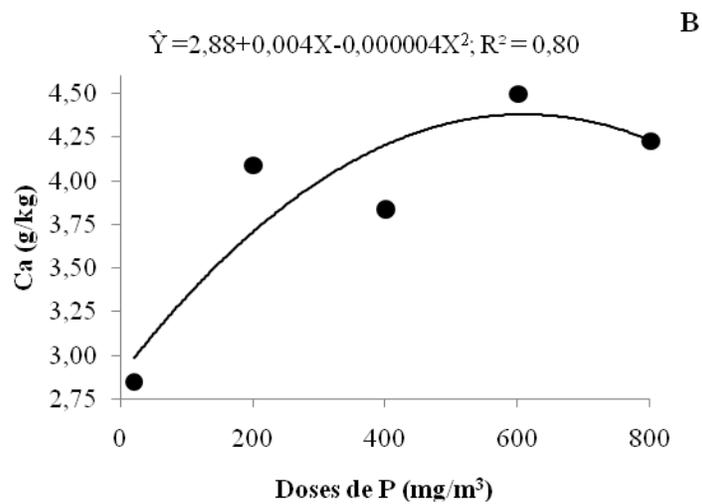
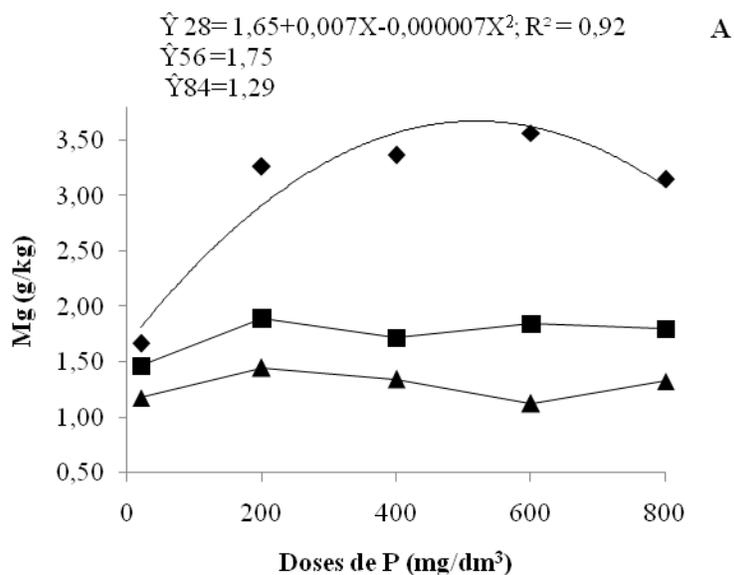


Gráfico 13 Teores de Mg (A) e Ca (B) em folhas de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte [28 (◆), 56 (■) e 84 (▲) dias, (● médias das idades)]

Os teores de Cu reduziram quadraticamente com as doses de P, cujos menores valores foram 5,01, 4,37 e 4,12 mg/kg, nas doses 385, 455 e 625 mg/dm³ de P, para 28, 56 e 84, respectivamente. Esses níveis de Cu podem ser considerados baixos, pois segundo Malavolta (1987), o teor adequado para as braquiárias é de 6,0 mg/kg. O teor de Zn apresentou efeito linear decrescente com o aumento das doses de P, com redução de 0,01 mg/kg por mg/dm³ de P aplicado (Gráfico 14). Zn e P apresentam interação antagônica, por isso ocorre redução no teor de Zn com o aumento das doses de P.

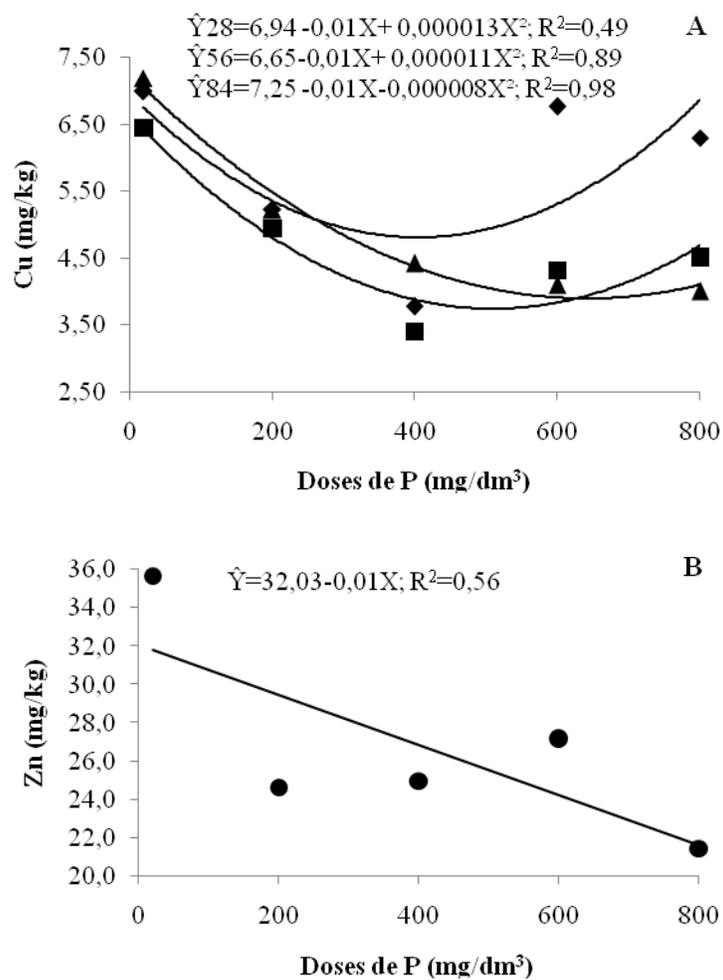


Gráfico 14 Teores de Cu (A) e Zn (B) em folhas de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte [28 (♦), 56 (■) e 84 (▲) dias, (● médias das idades)]

Tabela 2 Teores foliares de K, Mn e Zn de capim-Marandu sob doses (D) de P e idades (I) de corte

Idade	Dose de P (mg/dm ³)					Probabilidades		
	20	200	400	600	800	I	D	I x D
K (g/kg)								
28	18,1a	15,8a	16,5a	15,8a	14,9a	<0,01	<0,01	0,89
56	16,0b	14,0b	14,0b	14,0b	13,9b			
84	15,5b	13,9b	13,3b	13,8b	13,7b			
Mn (g/kg)								
28	191,2a	163,9a	218,5a	211,0a	195,8a	<0,01	<0,59	0,09
56	105,3b	119,2b	103,3b	89,5b	85,8b			
84	56,9c	81,8c	73,7c	52,4c	65,9c			
Zn (g/kg)								
28	49,7a	37,9a	36,1a	34,1a	29,8a	<0,01	<0,01	0,53
56	31,2b	17,8b	22,6b	31,0b	17,3b			
84	26,2b	18,2b	16,3b	16,4b	17,3b			

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey $P > 0,05$

Considerando os tecidos analisados nas folhas de capim-Marandu houve correlação significativa negativa dos tecidos esclerênquima e metaxilema da nervura central com a DIVMS e a o teor de PB (Tabela 3). Queiroz, Gomide e Maria (2000) quando avaliaram a lâmina foliar de capim-elefante, capim-setária e capim-jaraguá também observaram correlação negativa do esclerênquima com a DIVMS. O esclerênquima produz grande efeito na qualidade da forrageira, em decorrência da grande espessura de sua parede celular (WILSON, 1994).

Os tecidos mesofilo, epiderme abaxial da nervura de menor calibre, BPF e células buliformes apresentaram correlação significativa positiva com a DIVMS e a PB e o mesofilo e a BPF correlacionaram-se negativamente com os teores de FDA, FDN e lignina (Tabela 3). Paciullo et al. (2001) explicam que o mesofilo, por ser composto de células de parede delgada e normalmente não lignificada, apresenta correlação positiva com PB e negativa com os teores de FDA. As células de BPF são consideradas mais resistentes à digestão, pois são

passíveis de lignificação, no entanto, no interior dessas células está contido 50% das reservas de carboidratos e proteínas das folhas. Pode-se inferir que a alta correlação com a DIVMS e a PB ocorreram por que as células estavam pouco lignificadas o que favoreceu o aumento dos teores de PB e DIVMS.

O metaxilema da nervura central correlacionou-se positivamente com o teor de FDA e negativamente com a DIVMS e PB. As células do xilema e fibras associadas apresentam parede espessa e lignificada. As paredes destas células são consideradas indigestíveis nas gramíneas (AKIN, 1989). Esses resultados corroboram os apresentados por Bauer et al. (2008) que verificaram altas correlações positivas de xilema e esclerênquima com FDN, FDA, celulose e lignina e correlações negativas com a DIVMS.

O floema, metaxilema e esclerênquima da nervura de menor calibre das folhas correlacionaram-se negativamente com os teores de PB. Esses resultados corroboram com os encontrados por Paciullo et al. (2001), pois xilema e esclerênquima apresentaram correlação negativa com os teores protéicos de folhas de capim-braquiária, capim-gordura e tifton 85.

As altas correlações positivas entre as células buliformes e a DIVMS e PB podem se justificar por que este tipo de célula epidérmica é considerada de alta degradação, pois se assemelha às parenquimáticas, apresentando paredes celulares delgadas e recobertas por uma fina cutícula, com composição química distinta daquela que recobre as demais células epidérmicas (BRITO, 1997).

Tabela 3 Coeficientes de correlações de Pearson dos teores de fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN), digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), proteína bruta (PB) e LIGNINA com os tecidos mensurados na folha de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte

Tecidos	FDA	FDN	DIVMS	PB	LIGNINA
ESCNC	0,12	0,31***	-0,29**	-0,47***	-0,14
METNC	0,28**	0,19	-0,39***	-0,31***	0,16
EPABNC	0,09	0,02	0,30**	0,14	-0,18
MESOFILO	-0,22*	-0,36***	0,72***	0,52***	-0,22*
EPABNMC	-0,08	-0,15	0,49***	0,40**	-0,13
BPF	-0,29**	-0,31**	0,70***	0,63***	-0,20
FLOEMA	0,08	0,17	-0,20	-0,35***	0,08
METNMC	0,12	0,23	-0,22*	-0,43***	0,02
ESCNMC	-0,02	0,12	0,10	-0,26**	0,01
BUL	-0,30**	-0,31**	0,69***	0,51***	-0,19

ESCNC (Esclerênquima da Nervura Central), METNC (Metaxilema da Nervura Central), EPABNC (epiderme abaxial da Nervura Central), EPABNMC (epiderme abaxial da nervura de menor calibre), BPF (Bainha parenquimática do Feixe vascular), METNMC (Metaxilema da nervura de menor calibre), ESCNMC (Esclerênquima da nervura de menor calibre), BUL (células buliformes). * P<0,1; **P<0,05; ***P<0,01

No caule de capim-Marandu só foram avaliadas as idades de 56 e 84 dias, pois, aos 28 dias não houve material suficiente para análise. Houve efeito da interação idade x dose para FDA, LIGNINA, PB e DIVMS (P<0,01). O teor de fibra em detergente neutro não apresentou efeito significativo para nenhum dos fatores avaliados, com média de 75,5% da MS (Tabela 4).

O teor de FDA apresentou efeito linear crescente aos 56 dias, com incremento de 0,011 % por mg/dm³ de P aplicado; aos 84 dias houve aumento quadrático com valor máximo de 45,2%, na dose de 530 mg/dm³ de P. A lignina aumentou linearmente nas duas idades, com incrementos de 0,009 e 0,004 % por mg/dm³ de P aplicado, para 56 e 84 dias, respectivamente (Gráfico 16).

O teor de PB reduziu quadraticamente nas duas idades avaliadas, com valores mínimos de 7,54 e 0,97% da MS, nas doses de 271 e 675 mg/dm³ de P, para 56 e 84 dias. A DIVMS também reduziu quadraticamente com valores

mínimos de 41,17 e 30,33 %, nas doses de 366 e 529 mg/dm³ de P, para 56 e 84 dias (Gráfico 17).

O espessamento da parede celular secundária observado com a maturação dos tecidos vegetais resulta no incremento da FDN em detrimento do conteúdo celular (BRITO, 1999). Em gramíneas o conteúdo de FDN é maior no caule em relação as folhas (BRITO; RODELLA; DESCHAMPS, 2003). Os resultados apresentados neste trabalho corroboram com os encontrados por Brito, Rodella e Deschamps (2003), que obtiveram teores de 82,68% de FDN, 8,03% de PB e 16,8% de lignina no caule de *B. brizantha*. A redução na DIVMS pode ser atribuída tanto aos teores de lignina obtidos, pois efeitos negativos da presença da lignina na parede celular sobre a digestibilidade são maiores nos caules, quanto à proporção de tecidos lignificados.

As espessuras do esclerênquima e da epiderme e a área do feixe vascular tiveram efeito significativo para dose ($P < 0,01$) e idade ($P < 0,01$) (Tabela 4).

Com o aumento da idade observou-se menores valores de espessura do esclerênquima e das áreas do feixe vascular e do floema, no entanto, a espessura da epiderme e a área do metaxilema aumentaram (Tabela 4).

Os resultados obtidos na espessura e área do feixe vascular diferem dos achados de Paciullo et al. (2002) que verificaram aumento mais expressivo em área de esclerênquima, com o desenvolvimento. A epiderme e a área do metaxilema se tornaram lignificadas com o aumento da idade, pois com a maturação do colmo ocorre o espessamento e lignificação da parede secundária das células do parênquima (CARVALHO; PIRES, 2008).

Tabela 4 Teores caulinares de fibra em detergente neutro (FDN), espessuras do esclerênquima (ESC) e da epiderme (EPI) e área do feixe vascular (AFV) e do floema (FLO) do caule de capim-Marandu sob doses (D) de P e idades (I) de corte

Idade	Dose de P (mg/dm ³)					Probabilidades		
	20	200	400	600	800	I	D	I x D
FDN (% na MS)								
56	70,6	75,0	76,2	78,9	78,7	0,56	0,13	0,07
84	74,3	76,4	77,5	73,1	74,7			
ESC (µm)								
56	65,6 ^a	84,4a	87,6a	104,7a	82,0a	0,01	<0,01	0,11
84	42,8b	79,7b	74,8b	97,2b	66,0b			
EPI (µm)								
56	14,5b	13,9b	13,1b	14,1b	15,0b	0,01	0,05	0,54
84	16,7 ^a	15,9a	14,1a	16,0a	15,3a			
AFV (µm ²)								
56	26889,6a	37406,5a	33775,4a	34636,6a	33481,2a	<0,01	<0,01	0,19
84	26611,7b	29060,0b	28201,0b	31492,7b	30186,9b			
FLO (µm ²)								
56	5165,5a	7003,9a	6672,8a	7099,5a	8052,2a	0,01	0,73	0,09
84	6395,8b	5977,6b	5182,7b	5710,9b	5113,8b			

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste F (P>0,05)

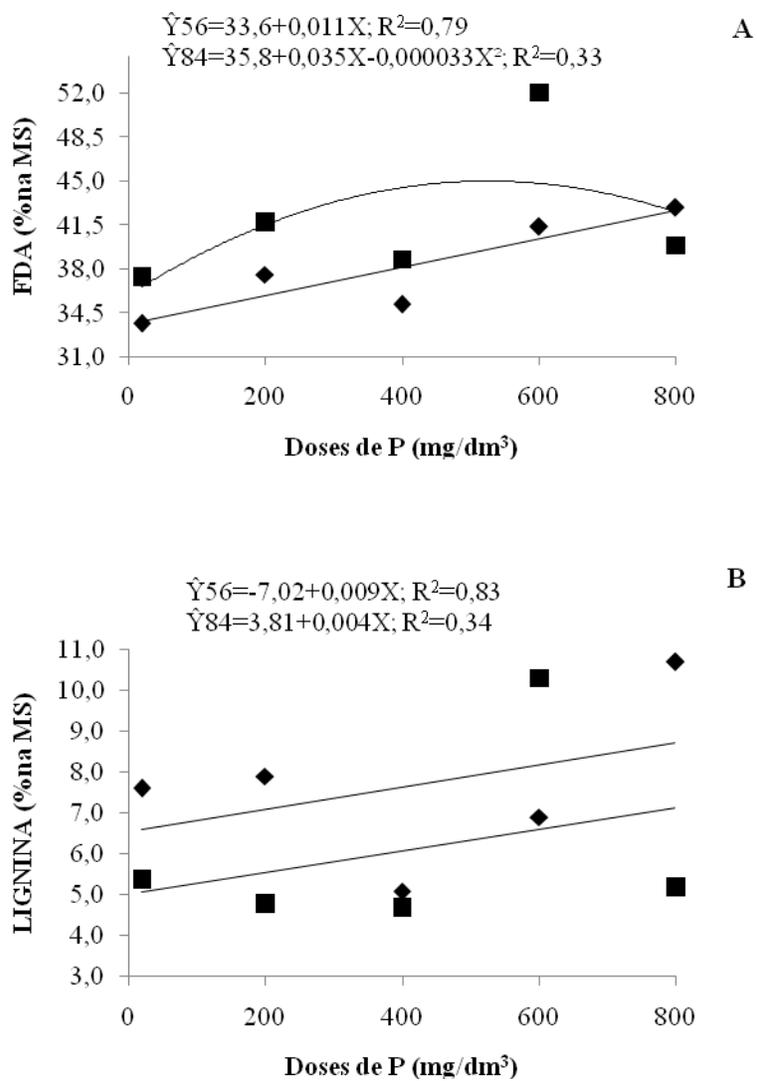


Gráfico 15 Teores de fibra em detergente ácido (FDA) (A) e lignina (LIGNINA) (B) do caule de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte [56 (◆) e 84 (■) dias]

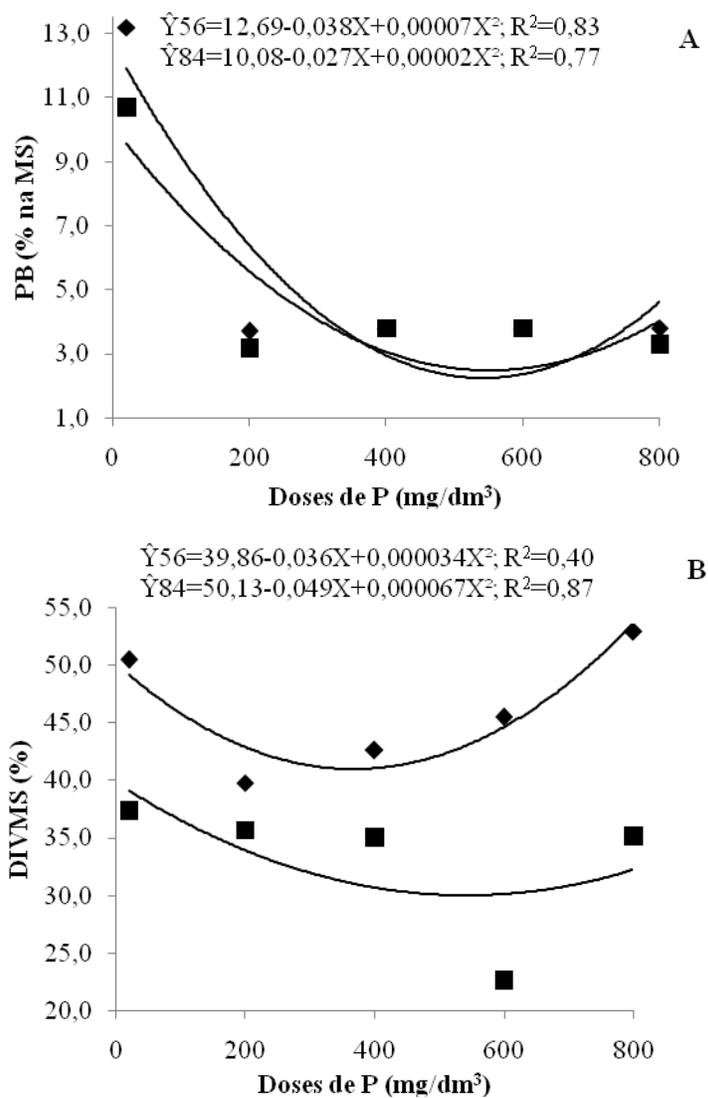


Gráfico 16 Proteína bruta (PB) (A) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) (B) do caule de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte [56 (◆) e 84 (■) dias]

A área do esclerênquima aumentou quadraticamente com o aumento das doses, com maior área ($92,9 \mu\text{m}^2$) ocorrendo com 497 mg/dm^3 de P. A espessura da epiderme reduziu quadraticamente, com valor mínimo de $14,15 \mu\text{m}$, na dose de $437,5 \text{ mg/dm}^3$ de P (Gráfico 17).

A área do feixe vascular também aumentou com o incremento das doses de P, atingindo maior área ($33.296,05$) com $548,5 \text{ mg/dm}^3$ de P. A área do metaxilema aumentou quadraticamente aos 56 dias, com ponto máximo de $6.048 \mu\text{m}^2$, na dose 401 mg/dm^3 de P; aos 84 dias houve aumento linear com as doses de P, com incremento de $1,23 \mu\text{m}^2$ por mg/dm^3 de P aplicado (Gráfico 18).

As doses de P proporcionaram maior maturação dos tecidos, com aumento nas áreas do esclerênquima, do feixe vascular e do metaxilema. Alves de Brito e Deschamps (1998) verificaram aumento no tecido vascular lignificado no sentido apical-basal no colmo de cultivares de *Pennisetum purpureum*. Por outro lado, Brito e Rodella (1999) não verificaram alterações em outras espécies como a *Brachiaria*.

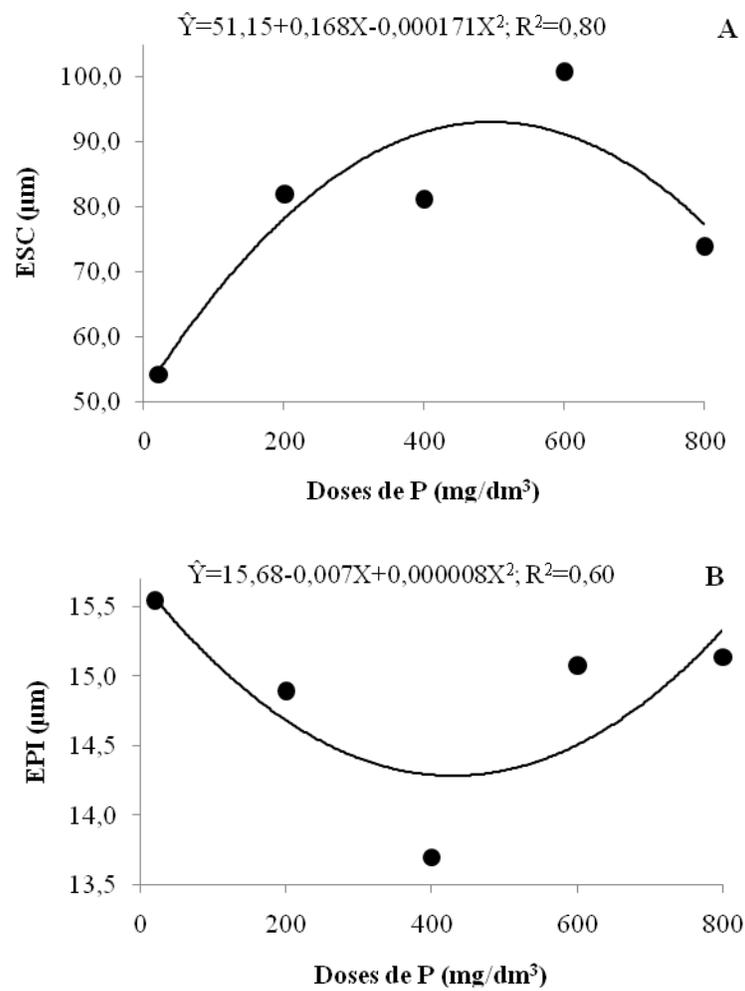


Gráfico 17 Espessuras do esclerênquima (ESC) (A) e da epiderme (EPI) (B) do caule de capim-Marandu sob doses de P, (● médias das idades)

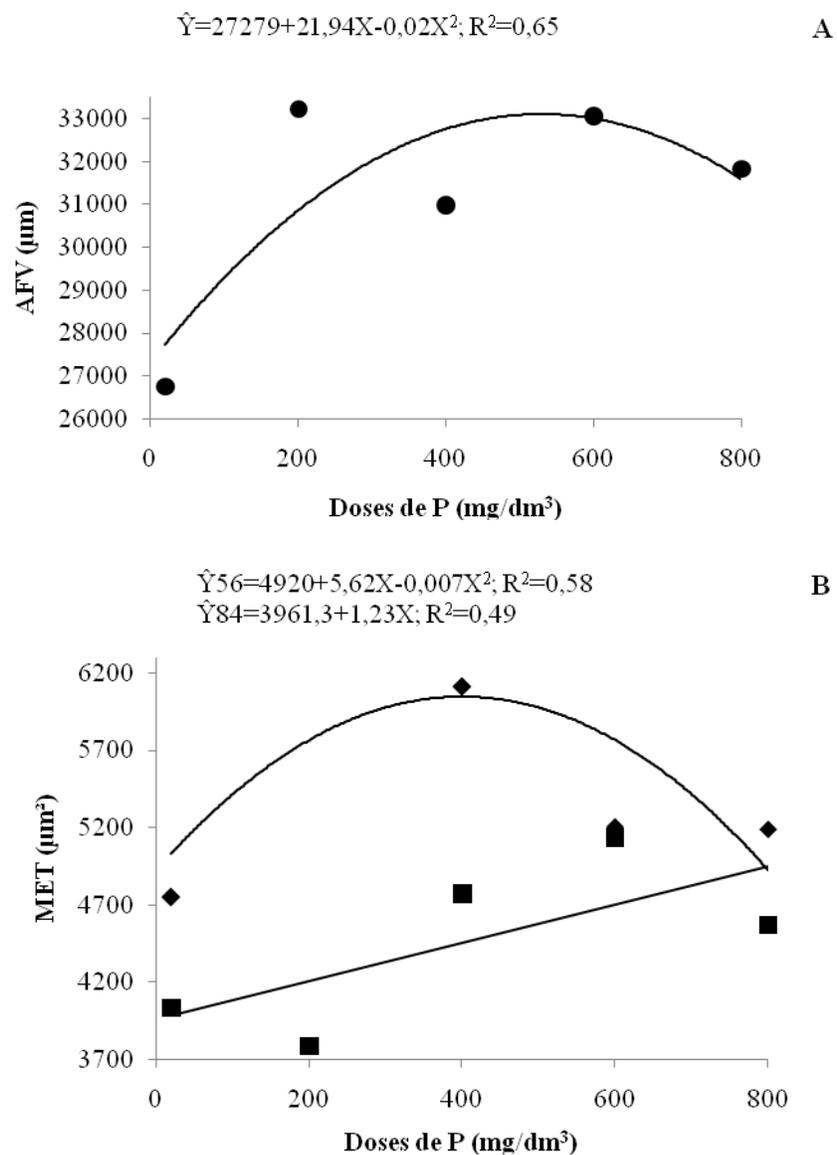


Gráfico 18 Áreas do feixe vascular (AFV) (A) e do metaxilema (MET) (B) do caule de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte [56 (♦) e 84 (■) dias, (● médias das idades)]

As variáveis diâmetro do caule, distâncias entre feixes e entre epiderme e esclerênquima responderam significativamente à interação ($P < 0,01$).

O diâmetro do caule aumentou quadraticamente nas duas idades avaliadas, aos 56 e 84 dias os maiores diâmetros (3043,3 e 3152,5 μm^2) ocorreram nas doses 783 e 523 mg/dm^3 de P (Gráfico 19).

A distância entre feixes aumentou linearmente aos 56 dias, com incremento de 0,1 μm por mg/dm^3 de P e na idade de 84 dias reduziu 0,01 μm por mg/dm^3 de P aplicado. A distância entre epiderme e esclerênquima apresentou resposta quadrática positiva aos 56 dias, com valor máximo de 49,15 μm , na dose 500 mg/dm^3 de P, e incremento na ordem de 0,007 μm por mg/dm^3 de P, aos 84 dias (Gráfico 20).

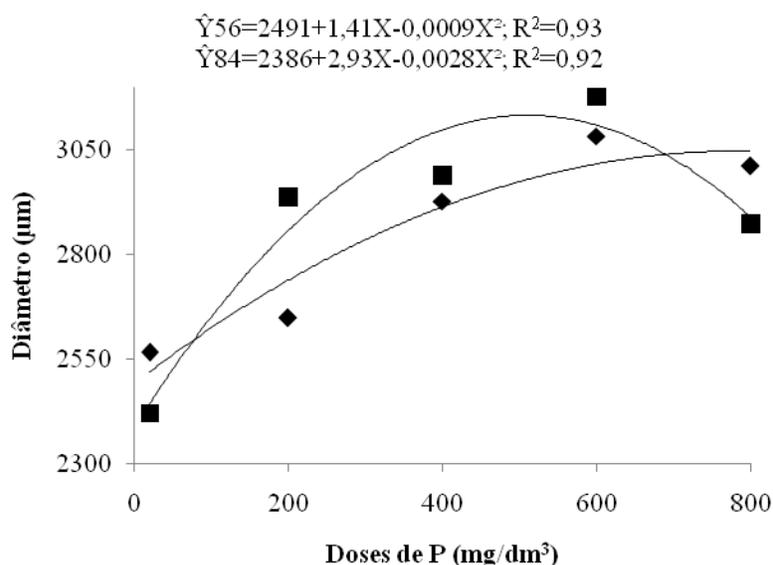


Gráfico 19 Diâmetro do caule de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte [56 (◆) e 84 (■) dias]

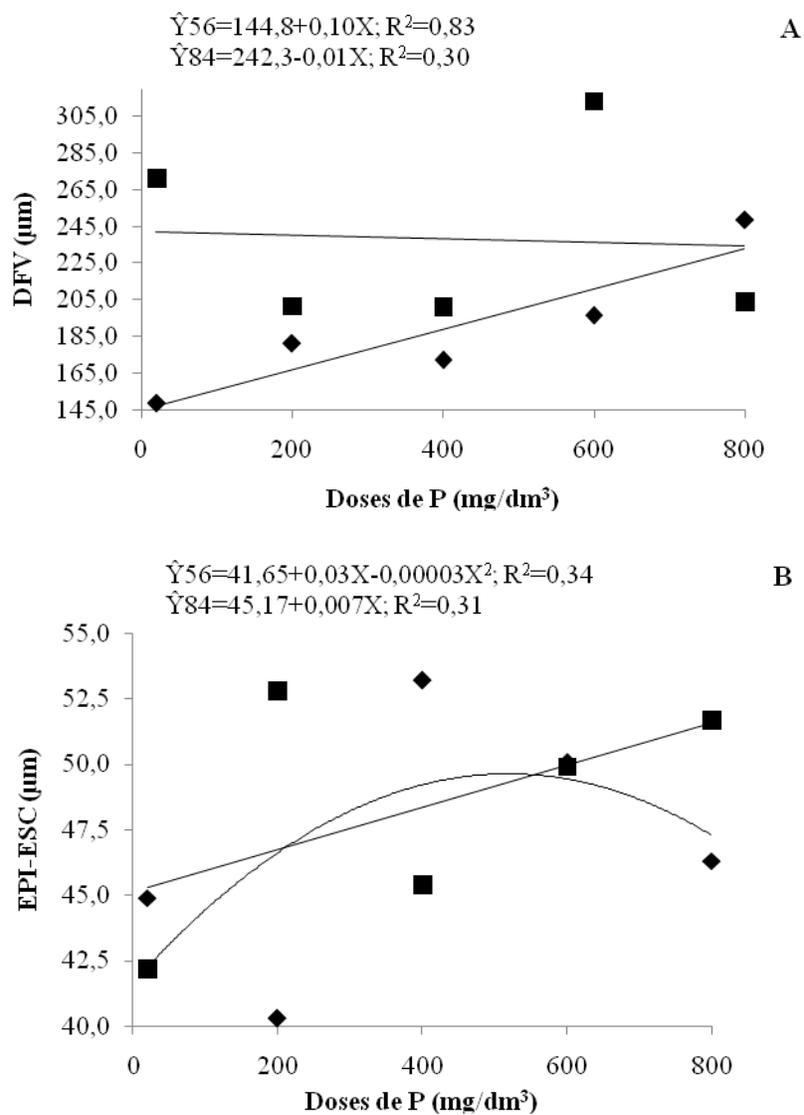


Gráfico 20 Distâncias entre os feixes vasculares (DFV) (A) e entre a epiderme e esclerênquima (EPI-ESC) (B) do caule de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte [56 (◆) e 84 (■) dias]

Nas fotomicrografias das secções transversais do caule (Figura 5) é possível observar maior proporção de tecido esclerenquimático aos 84 dias. Esse efeito ocorreu por que com a maturidade dos caules há maior lignificação dos tecidos.

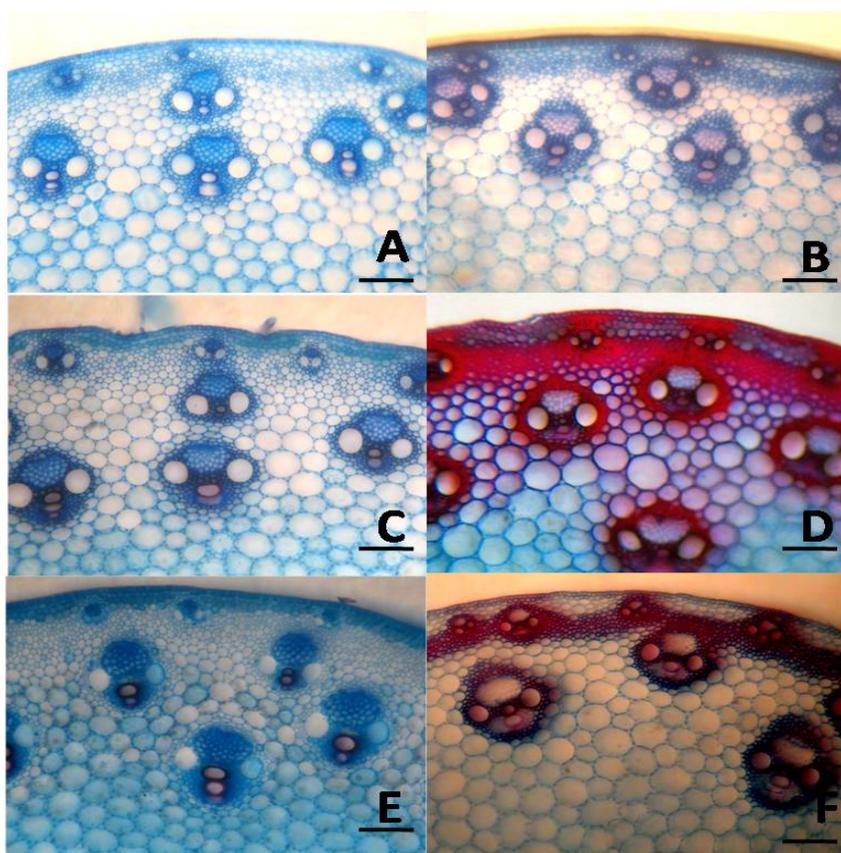


Figura 5 Fotomicrografias das secções transversais do caule de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte. A (56 dias, 20 mg/dm³ de P); B (84 dias, 20 mg/dm³ de P); C (56 dias, 400 mg/dm³ de P); D (84 dias, 400 mg/dm³ de P); E (56 dias, 800 mg/dm³ de P); F (84 dias, 800 mg/dm³ de P) (Barra de escala: 50 µm)

Os teores de P e Mg apresentaram efeito significativo para a interação idade x dose ($P < 0,01$).

O teor de P aumentou linearmente com o aumento das doses de P nas duas idades, com incrementos de 0,002 e 0,001 g/kg de P por mg/dm^3 de P aplicado. O K reduziu quadraticamente com as doses de P, cujo menor teor (12,05 g/kg) foi obtido na dose 520 mg/dm^3 de P (Gráfico 21).

O teor de Mg aumentou quadraticamente aos 56 dias, com teor máximo de 0,99 g/kg de P, na dose de 250 mg/dm^3 de P; aos 84 dias, ocorreu redução linear, com incremento de 0,0005 g/kg de P por mg/dm^3 de P aplicado.

O teor de Ca respondeu as doses de fósforo aplicadas, apresentando aumento quadrático, cujo maior valor (2,38 g/kg) ocorreu na dose 400 mg/dm^3 de P (Gráfico 22).

Os teores de K, e Cu reduziram com o aumento da idade de corte (Tabela 5).

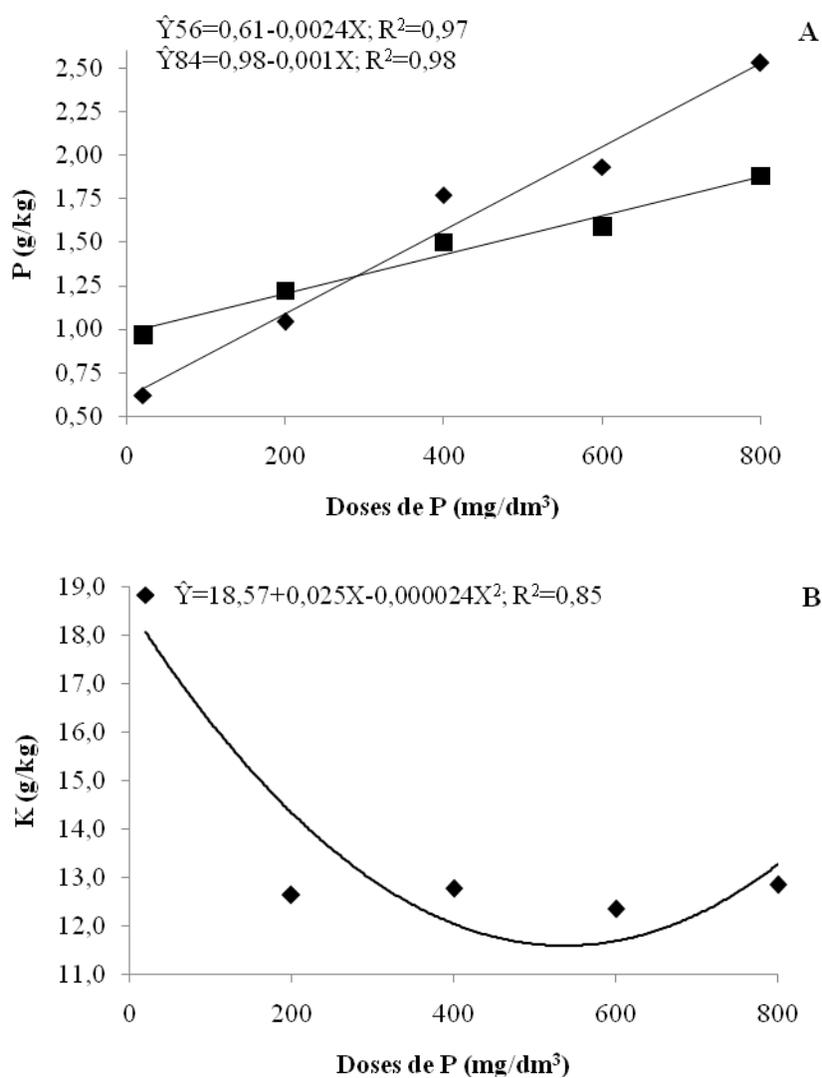


Gráfico 21 Teores de P (A) e K (B) no caule de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte [56 (◆) e 84 (■) dias]

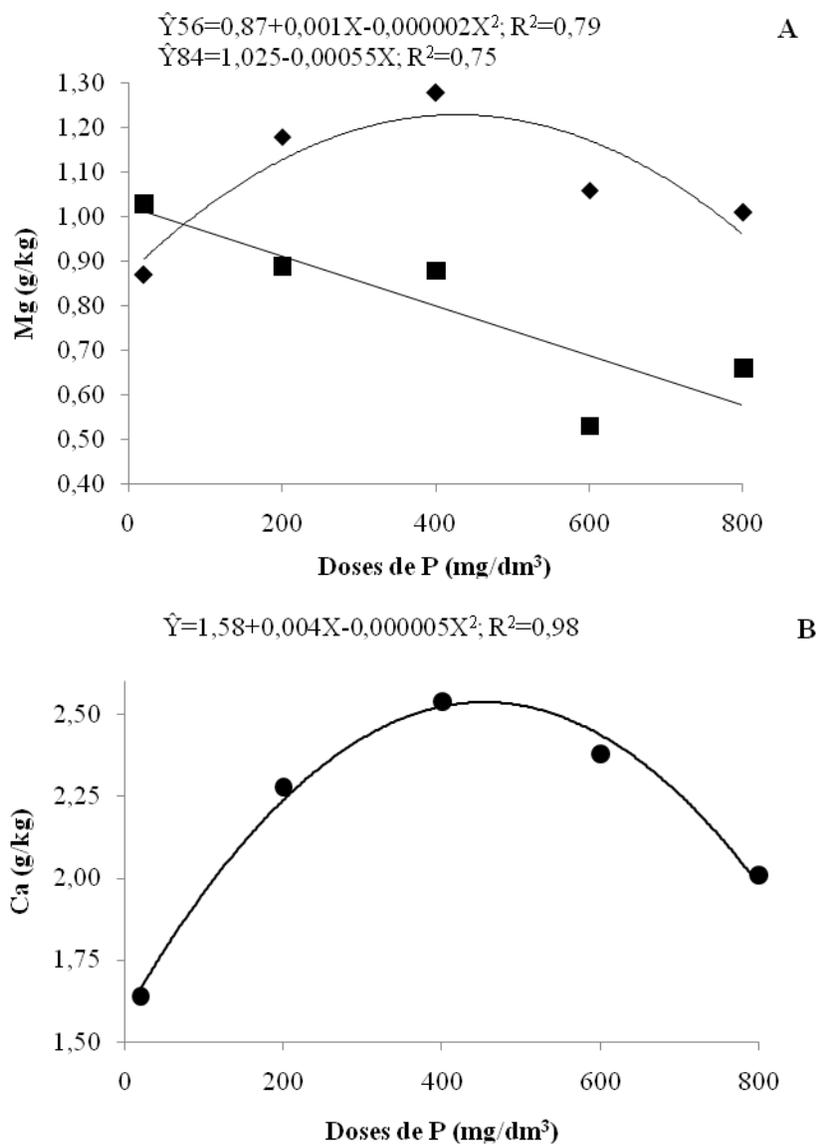


Gráfico 22 Teores de Mg (A) e Ca (B) no caule de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte [56 (♦) e 84 (■) dias, (● médias das idades)]

Tabela 5 Teores caulinares de K, Cu e Mn de capim-Marandu sob doses (D) de P e idades (I) de corte

Idade	Dose de P (mg/dm ³)					Probabilidades (P)		
	20	200	400	600	800	I	D	I x D
K (g/kg)								
56	20,3a	13,1a	14,2a	13,3a	13,9a	<0,01	<0,01	0,77
84	17,3b	11,9b	11,4b	11,4b	11,8b			
Cu (mg/kg)								
56	4,64a	3,85a	4,16a	4,29a	3,81a	<0,01	<0,01	0,17
84	4,48b	2,92b	2,79b	2,39b	2,74b			
Mn (mg/kg)								
56	112,9	130,9	101,8	86,9	84,8	0,16	0,06	0,73
84	78,6	112,2	11,2	60,2	78,0			

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste F (P>0,05)

Os teores de Cu e Zn apresentaram efeito significativo com o aumento das doses de P (P<0,01). Os teores de Cu e Zn reduziram quadraticamente com as doses, com menor valor de Cu (3,47 mg/kg), ocorrendo na dose 500 mg/dm³ de P. Os menores teores de Zn aos 56 e 84 dias, foram 25,86 e 42,33 mg/kg, nas doses 567 e 576 mg/dm³ de P, respectivamente (Gráfico 23).

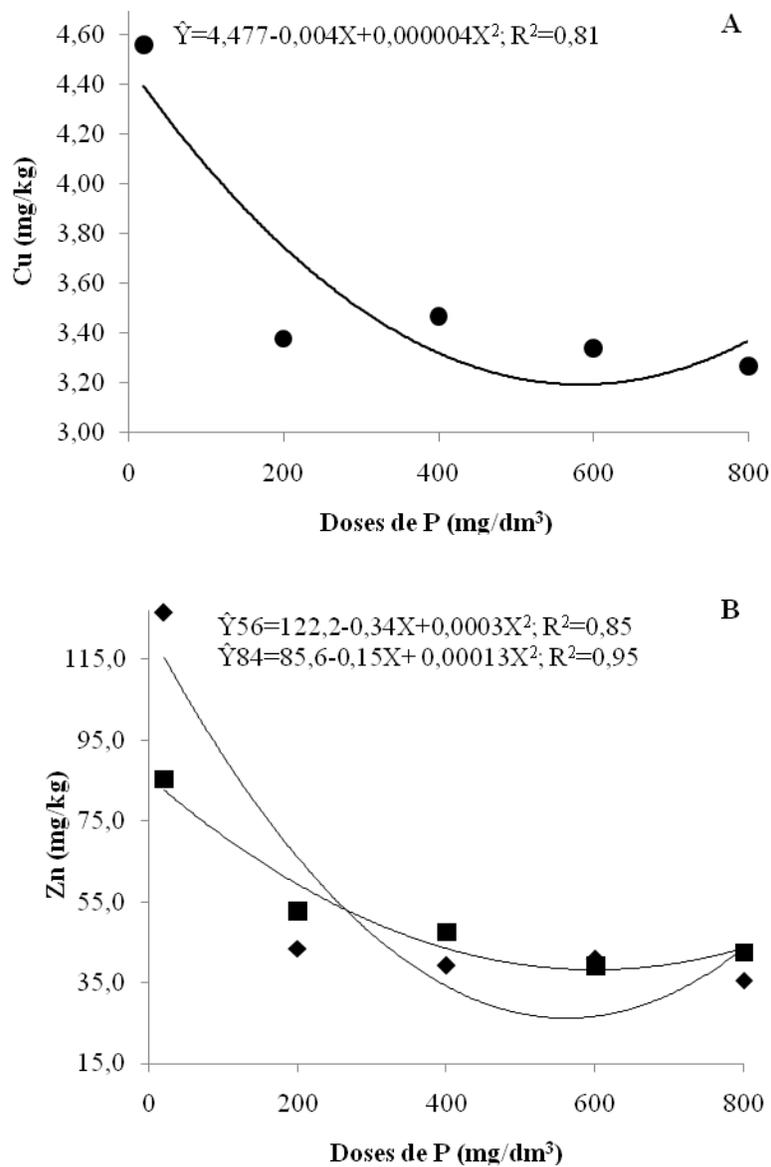


Gráfico 23 Teores de Cu (A) e Zn (B) no caule de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte [56 (◆) e 84 (■) dias, (● médias das idades)]

Considerando os tecidos analisados no colmo de capim-Marandu houve correlação significativa negativa do diâmetro do caule, esclerênquima e área do feixe vascular com a PB, e de distância entre feixes com DIVMS; a correlação foi positiva entre diâmetro do caule, distância entre feixes e esclerênquima com FDA (Tabela 6).

Conforme Akin (1989) em colmos maduros, o esclerênquima e o xilema, além das células de parênquima próximas ao esclerênquima, permaneceram não digeridos. O decréscimo na digestão do parênquima, com a idade do colmo, pode ser atribuído à progressiva deposição de compostos fenólicos na parede dessas células.

Tabela 6 Coeficientes de correlações de Pearson dos teores de fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN), digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), proteína bruta (PB) e LIGNINA com os tecidos mensurados no caule de capim-Marandu sob doses de P e idades de corte

Tecidos	PB	FDN	DIVMS	FDA	LIGNINA
Diâmetro	-0,66***	0,27*	-0,21	0,44**	0,15
DFV	-0,12	-0,05	-0,46**	0,52***	0,25
ESC	-0,57***	0,24	-0,09	0,43**	0,28*
Epiderme	0,14	-0,05	-0,27*	0,24	0,09
AFV	-0,50***	0,19	0,14	0,15	0,13

DFV (Distância entre os feixes vasculares), ESC (esclerênquima), AFV (área de feixe vascular). *P<0,1; **P<0,05; ***P<0,01

4 CONCLUSÕES

A aplicação de fósforo, apesar de promover aumento na produção de matéria seca proporciona redução no valor nutritivo das folhas e caules do capim-Marandu.

O fósforo provoca aumento nas áreas de tecidos altamente lignificados como esclerênquima e metaxilema e redução do mesofilo foliar com aumento das epidermes adaxial e abaxial; nos caules também há incremento na distância entre feixes, e entre epiderme esclerênquima, e na espessura de esclerênquima.

A aplicação de fósforo proporciona incremento nos teores foliares de P e Ca no capim-Marandu.

Tanto nas folhas quanto nos caules ocorrem correlações significativas importantes entre os tecidos e o valor nutritivo, ressaltando a relevância do uso de estudos anatômicos como ferramenta no melhoramento genético de gramíneas.

REFERÊNCIAS

- AKIN, D. E. Histological and physical affecting digestibility of forages. **Agronomy Journal**, Madison, v. 21, n. 1, p. 17-25, June 1989.
- AKIN, D. E. et al. Temperature effects on leaf anatomy, phenolic acids, and tissue digestibility in tall fescue. **Agronomy Journal**, Madison, v. 79, n. 2, p. 271-275, Mar./Apr. 1987.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. Arlington, 1995. v. 1, 684 p.
- _____. _____. Washington, 1980. 1015 p.
- BAUER, M. O. et al. Características anatômicas e valor nutritivo de quatro gramíneas predominantes em pastagem natural de Viçosa, MG. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, n. 1, p. 9-17, jan./fev. 2008.
- BRITO, C. J. F. A. de. **Organização estrutural e degradação in vitro de tecidos em *Pennisetum purpureum* Schum (Poacea)**. 1997. 119 p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1997.
- BRITO, C. J. F. A. de; DESCHAMPS, F. C. Caracterização anatômica de *Hemarthria altissima* (Poir) Stapf & C.E. Hubb (Poaceae). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998. p. 675-677.
- BRITO, C. J. F. A. de et al. Anatomia quantitativa e degradação *in vitro* de tecidos em cultivares de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 28, n. 2, p. 223-229, out. 1999.
- BRITO, C. J. F. A. de; RODELLA, R. A. Quantificação anatômica da folha e do colmo de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola* em três níveis de inserção. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBZ, 1999. 1 CD-ROM.

BRITO, C. J. F. A. de; RODELLA, R. A.; DESCHAMPS, F. C. Anatomia quantitativa e degradação in vitro de tecidos em cultivares de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 28, n. 2, p. 223-229, abr./jun. 1999.

_____. Perfil químico da parede celular e suas implicações na digestibilidade de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 32, n. 6, p. 1835-1844, nov./dez. 2003.

CARVALHO, G. G. P.; PIRES, A. J. V. Organização dos tecidos de plantas forrageiras e suas implicações para os ruminantes. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 57, p. 13-18, out. 2008.

CORRÊA, L. A.; HAAG, H. P. Níveis críticos de fósforo para o estabelecimento de gramíneas forrageiras, em latossolo vermelho-amarelo álico: I., ensaio em casa de vegetação. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 50, n. 1, p. 99-108, 1993.

COSTA, K. A. P. et al. Efeito de corte na produção de massa seca e composição químico-bromatológica de *Brachiaria brizantha* c. MG-5. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1197-1202, jul./ago. 2007.

COSTA, N. L. et al. **Efeito de doses e fontes de fósforo na recuperação de pastagens de *Andropogon gayanus* cv. Planaltina**. Rio Branco: EMBRAPA-CPAF, 2000. 2 p.

COUTO, W. S. et al. Estabelecimento de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu sob diferentes fontes e níveis de fósforo na região Bragantina, estado do Pará. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: SBZ, 1997. 1 CD-ROM.

HANNA, W. W.; MONSON, W. G.; BURTON, G. W. Histological examination of fresh forages leaves after "in vitro" digestion. **Crop Science**, Madison, v. 13, n. 1, p. 98-102, 1973.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 300 p.

KRAUS, J. E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: Edur, 1997. 221 p.

MALAVOLTA, E. **Manual de calagem e adubação das principais culturas**. São Paulo: Ceres, 1987. 496 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: POTAFÓS, 1997. 319 p.

MOREIRA, S. M.; LOURDES, S. G.; THIÉBAU, J. T. L. Efeito da interação gramínea-solo-calagem sobre a eficiência dos fosfatos naturais. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 26, n. 146, p. 360-373, 1979.

PACIULLO, D. S. C. Características anatômicas relacionadas ao valor nutritivo de gramíneas forrageiras. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 357-364, mar./abr. 2002.

PACIULLO, D. S. C. et al. Características anatômicas da lâmina foliar e do colmo de gramíneas forrageiras tropicais, em função do nível de inserção no perfilho, da idade e da estação de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 31, n. 2, p. 890-899, mar./abr. 2002.

_____. Correlações entre componentes anatômicos, químicos e digestibilidade in vitro da matéria seca de gramíneas forrageiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 30, n. 3, p. 955-963, 2001. Suplemento.

QUEIROZ, D. S.; GOMIDE, J. A.; MARIA, J. Avaliação da folha e do colmo de topo e base de perfilhos de três gramíneas forrageiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 29, n. 1, p. 61-68, jan./fev. 2000.

RAMOS, G. M. et al. Doses de fósforo na produção de gramíneas forrageiras em solos ácidos e de baixa fertilidade da região meio-norte do Brasil. **Pasturas Tropicais**, Cali, v. 19, n. 3, p. 24-27, 1997.

SANTOS, L. C. et al. Produção e composição química da *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria decumbens* submetidas a diferentes adubações. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 4, p. 856-866, 2008.

SILVA, L. M.; ALQUINI, Y. Anatomia comparativa de folhas e caules de *Axonopus scoparius* (Flügge) Kuhl. e *Axonopus fissifolius* (Raddi) Kuhl. (Poaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 185-192, jun. 2003.

SOEST, P. J. van. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University, 1994. 446 p.

SOEST, P. J. van. Use of detergents in the analysis of fibrous foods: II., a rapid method for the determination of fiber and lignin. **Journal of the Association of the Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 46, p. 829-835, 1963.

_____; WINE, R. H. The determination of lignin and cellulose in acid-detergent fiber with permanganate. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 51, p. 780-785, 1968.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS/STAT user's guide**. Version 6.11. Cary, 1996. v. 2, 842 p.

TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**, London, v. 18, p. 104-111, 1963.

VALADARES FILHO, S. C. et al. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. 2. ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2006. v. 1, 329 p.

WERNER, J. C. Adubação de pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE CALAGEM E ADUBAÇÃO DE PASTAGENS, 11., 1994, Nova Odessa. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1994. p. 209-222.

WILSON, J. R. Cell wall characteristics in relation o forage digestion by ruminants. **Journal of Agricultural Science**, Madison, v. 122, n. 2, p. 173-182, Mar. 1994.

WILSON, J. R.; BROWN, R. H.; WINDHAM, W. R. Influence of leaf anatomy on the dry matter digestibility of C3, C4, and C3/C4 intermediate types of Panicum species. **Crop Science**, Madison, v. 23, n. 1, p. 141-146, Apr. 1983.

WILSON, J. R.; DEINUM, B.; ENGELS, F. M. Temperature effects on anatomy and digestibility of leaf and stem of tropical and temperate forage species. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, Palmerston North, v. 39, n. 1, p. 31-48, 1991.

Artigo redigido conforme norma da Revista Brasileira de Ciência do Solo

**COMPOSIÇÃO QUÍMICO-BROMATOLÓGICA E ANATÔMICA DE
FOLHA E CAULE DE *Pueraria phaseoloides* Benth EM REPOSTA A
FÓSFORO E IDADES**

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o efeito de doses de P e idades de corte na produção de matéria seca (MS), anatomia e valor nutritivo de folha e caule de *Pueraria Phaseoloides*, conduziu-se um experimento inteiramente casualizado com quatro repetições, em esquema fatorial 2 x 5, sendo duas idades de corte (60 e 90 dias) e cinco doses de P (100, 200, 400, 600 e 800 mg/dm³). Foram confeccionadas lâminas de folhas e as secções foram fotomicrografadas. A mensuração dos tecidos foi feita com o uso do *Software* de Análise de Imagens, modelo Image Tool, versão 1.3. Foram medidas as espessuras do limbo foliar, do esclerênquima da nervura central, do mesofilo, das epidermes abaxial e adaxial, e nos caules foram: espessuras do esclerênquima e da epiderme, distâncias entre epiderme e esclerênquima e entre feixes vasculares e diâmetro do caule. Determinou-se a produção de matéria seca (MS) e os teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e as concentrações P, K, Ca, Mg, Cu, Mn e Zn. A aplicação de P proporciona aumento na MS da parte aérea de *P. phaseoloides*, no teor de FDN e no teor de P nas folhas, com decréscimo na DIVMS, nas folhas e caule e redução de PB no caule. A leguminosa apresenta melhor valor nutritivo aos 90 dias que aos 60 dias.

Apesar das características anatômicas não terem apresentado resposta aos fatores avaliados nas folhas, há correlação positiva entre FDN e esclerênquima e entre epiderme abaxial da nervura central e a DIVMS. Nos caules observa-se a formação de um anel esclerenquimático e aumento na espessura da epiderme e na distância entre epiderme e esclerênquima com o aumento nas doses de P. Há correlações positivas entre diâmetro do caule e distância entre epiderme e esclerênquima com os teores de fibra (FDN e FDA).

Palavras-chave: Epiderme. Esclerênquima. Digestibilidade *in vitro* da matéria seca. Leguminosa.

ABSTRACT

Aiming to evaluate the effect of P rates and cutting ages in dry matter production, anatomy, and nutritive value of leaf and stem of *Pueraria phaseoloides*, it was conducted a completely randomized design with four replications in a factorial scheme 2 x 5, with two cutting ages (60 and 90 days) and five phosphorus levels (100, 200, 400, 600 and 800 mg/dm³). Slides were made of leaves and stems, the sections were photomicrographed. The measurement of tissue was performed using the Image Analysis Software, Model Image Pro Plus, version 1.3. It was measured the thickness of mesophyll (MES), of the epidermis and the bundle sheath distance, and in the stems: epidermis and sclerenchyma distance and the thickness of the epidermis and the sclerenchyma and stem diameter. It was determined the values of dry matter production, crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), in vitro dry matter digestibility (IVDMD) and P, K, Ca, Mg, Cu, Mn and Zn concentrations. P application provides an increase in dry matter of shoots of *P. phaseoloides* in NDF content and P content in leaves, a decrease in leaf and stem IVDMD and reduction of stem CP. The legume has better nutritional value at 90 daYs to 60 days. Despite the anatomical features did not show response to factors evaluated in the leaves, there is positive correlation into NDF with epidermis and sclerenchyma distance and into the lower epidermis with IVDMD. In shoots, it was observed the formation of a sclerenchyma ring and the increase of the epidermal thickness and epidermis and sclerenchyma distance with the levels of P. There are the positive correlations into stem diameter and epidermis and sclerenchyma distance with fiber contents (NDF and ADF).

Keywords: Epidermis. Sclerenchyma. *In vitro* dry matter digestibility. Legume.

1 INTRODUÇÃO

Apesar das pastagens formadas por gramíneas tropicais apresentarem alto potencial de produção, seu valor nutritivo cai rapidamente com a maturidade, sobretudo no período seco do ano, conseqüentemente restringindo a produtividade animal e a sustentabilidade dos sistemas. Uma das opções para minimizar esse problema é a introdução de leguminosas no sistema de produção por apresentarem melhor valor nutritivo em relação às gramíneas. Além disso, o uso de leguminosas é o meio mais econômico de se introduzir nitrogênio (N) nas pastagens. Isto é essencial naqueles sistemas de produção animal onde os retornos econômicos não são suficientes para justificar o emprego de fertilizantes (CARVALHO, 1986).

O principal nutriente limitante para a perenidade das pastagens brasileira é o fósforo, que é responsável principalmente por processos de enraizamento e perfilhamento das forrageiras (WERNER, 1994)

A leguminosa *Pueraria phaseoloides* tem sido recomendada para a formação de pastagens consorciadas, especialmente na Região Norte do Brasil, com: 1) *Panicum maximum* Jacq. (Colonião, Tanzânia 1 e Mombaça); 2) *Brachiaria brizantha* cv. Marandu; 3) *Brachiaria decumbens* Stapf; 4) *Brachiaria humidicola*; 5) *Andropogon gayanus* Kunth. cv, Planaltina; 6) *Pennisetum purpureum* Schum (COSTA et al., 1980, 2000; PIMENTEL et al., 1986; SALERNO; VETTERLE, 1983; VALENTIM; CARNEIRO, 2000; VALENTIM; COSTA, 1980, 1982a, 1982b; VALENTIM et al., 1984; VALENTIM; MOREIRA, 1994).

De acordo com Akin (1973), pode-se relacionar o potencial de digestibilidade de uma planta com os diferentes tecidos vegetais ou com tecidos específicos. Assim, maiores quantidades de tecidos vasculares lignificados e esclerenquimáticos proporcionam menores taxas de digestibilidade (RODELLA;

ISHIY; MAIMONI, 1982). Com o envelhecimento das plantas ocorre espessamento e lignificação das paredes celulares, principalmente na região dos feixes vasculares.

Devido à escassez de estudos sobre a anatomia de leguminosas forrageiras, faz-se necessário o desenvolvimento de mais pesquisas que possam esclarecer as relações existentes entre o valor nutritivo e a anatomia dessas plantas. Portanto, esta pesquisa tem como objetivo avaliar a produção de matéria seca, a composição químico-bromatológica e a anatomia de *Pueraria phaseoloides*, sob diferentes doses de P e idades de corte.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em vasos, na casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo (DCS) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). A leguminosa *Pueraria phaseoloides* foi cultivada em vasos de 4 dm³ em amostras de um Latossolo vermelho distroférico, textura argilosa, cujas características químicas do solo foram: pH: 5,3; Ca: 0,3 mg/dm³; Mg: 0,1 mg/dm³; Al: 0,7 mg/dm³; Al+H: 7,0 mg/dm³; P: 1,4 mg/dm³; K: 16 mg/dm³; CTC: 7,4 mg/dm³; Cu: 1,2 mg/dm³; Zn: 0,3 mg/dm³; Mn: 1,7 mg/dm³; Fe: 25,8 mg/dm³; B: 0,1 mg/dm³; S: 9,3 mg/dm³; V: 5,9 %; MO: 2,4 dag.kg⁻¹; P-rem: 9,9 mg/L.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 2 x 5, sendo três idades de corte (60 e 90 dias após o desbaste) e cinco doses de P (100, 200, 400 600 e 800 mg/dm³), na forma de sais P.A.

A acidez do solo foi corrigida com calcário dolomítico para elevar a saturação por bases para 60%. Uma adubação básica foi aplicada antes da semeadura e constou de 80 mg de N; 80 mg de K; 40 mg de S; 0,8 mg de B; 1,5 mg de Cu; 3,5 mg de Mn; 5,0 mg de Zn e 0,15 mg de Mo por dm³ de solo, usando-se fontes P.A.. As doses de fósforo foram aplicadas concomitantemente à adubação básica. Em seguida, foram semeadas 10 sementes escarificadas com ácido sulfúrico concentrado por 10 minutos, desbastando-se para cinco plântulas aos 15 dias após a emergência. Foram aplicadas adubações em cobertura com 200 mg/dm³ de N e K, parceladas em quatro vezes, duas semanas antes de cada corte.

Em cada idade de corte, a parte aérea das plantas foi cortada ao nível do solo e separada em folhas e caules. As folhas e caules foram colocados em estufa de circulação forçada de ar à temperatura de 65°C, pesados e moídos para análise laboratorial.

Foram coletadas as terceiras folhas da brotação terminal obedecendo ao padrão utilizado por Pereira Neto, Gabriele e Pinto (1999) e os caules foram retirados da porção localizada imediatamente acima da inserção da folha supramencionada. As folhas e caules amostrados foram fixados em solução de formaldeído, ácido acético e etanol 70% (JOHANSEN, 1940), por 48 horas e, em seguida, preservadas em etanol 70%, até a data das análises. Os fragmentos de folha e caule foram utilizados para a realização de cortes transversais em micrótomo de mesa.

Os cortes foram clarificados com hipoclorito de sódio a5%, por 10 min, reidratados por 10 min, corados com safrablau (solução de safranina e azul de Astra 7,5:2,5) e montados em lâminas com glicerina 50% (KRAUS; ARDUIN, 1997). Foi utilizado microscópio óptico acoplado a uma câmera digital, com a qual foram realizadas fotografias dos cortes. Estas foram utilizadas para as medições dos parâmetros anatômicos, pelo programa de análise de imagem Image Tool (UTHSCSA, San Antonio, Texas, USA), calibrado com régua microscópica fotografada nos mesmos aumentos das fotografias.

As características anatômicas mensuradas nas folhas (Figura 1) foram: as espessuras do limbo foliar, do esclerênquima da nervura central, do mesofilo, das epidermes abaxial e adaxial, e nos caules (Figura 2) foram: espessuras do esclerênquima e da epiderme, distâncias entre epiderme e esclerênquima e entre feixes vasculares e diâmetro do caule.

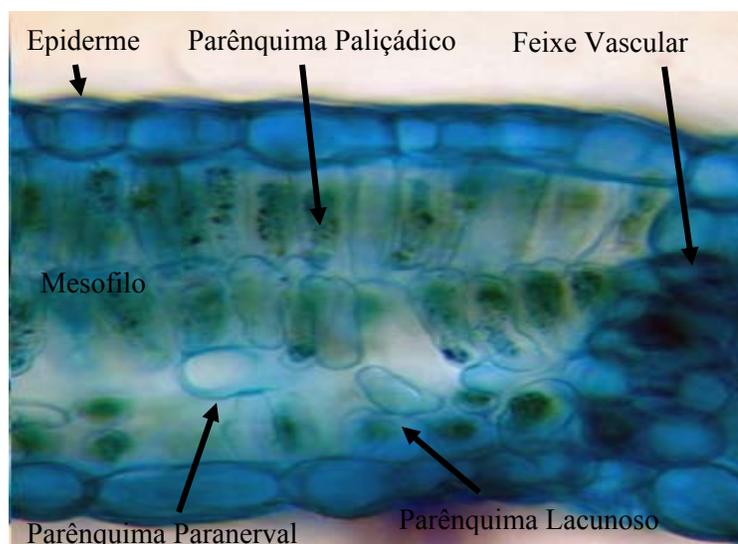


Figura 1 Fotomicrografia de secção transversal de folha de *P. phaseoloides* com indicações dos principais tecidos

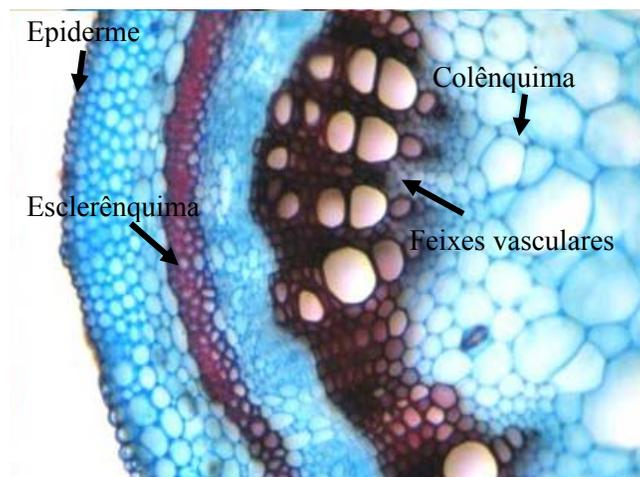


Figura 2 Fotomicrografia de secção de caule de *P. phaseoloides* com indicações dos principais tecidos

Foram realizadas análises bromatológicas para determinação das concentrações de matéria seca (MS) (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC, 1980), O teor de proteína bruta (PB) foi

determinado pelo método semi-micro Kjeldahl (AOAC, 1995), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), conforme metodologias descritas por Soest (1963); os valores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) de folhas e colmos das gramíneas, conforme metodologia de Tilley e Terry (1963).

A determinação das concentrações P, K, Ca, Mg, Cu, Mn e Zn nas folhas e caules foram realizadas de acordo com a metodologia descrita em Malavolta, Vitti e Oliveira (1997).

Foi realizada a análise de variância dos dados pelo procedimento GLM do pacote estatístico SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS INSTITUTE - SAS INSTITUTE, 1996) e as médias de idade foram comparadas pelo Teste F ($P < 0,05$). Foi realizado estudo de regressão nas médias de doses. As variáveis anatômicas foram submetidas à correlação linear de Pearson com os valores de FDN, FDA, PB e DIVMS.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O incremento das doses de P e das idades de corte proporcionou aumento na produção de matéria seca da parte aérea, folhas e caule (Tabela 1, Gráficos 1 e 2). As produções de matéria seca da parte aérea e das folhas apresentaram aumento quadrático com as doses de P, com valores máximos de 52,81 e 28,25 g/vaso, ocorrendo nas doses 556 e 519 mg/dm³, respectivamente para parte aérea e folha. A produção de matéria seca do caule teve incremento linear de 0,004 g/vaso por mg/dm³ de P aplicado. Esses aumentos ocorreram por que o P atua no enraizamento e perfilhamento das plantas.

O teor de PB e a DIVMS aumentaram aos 90 dias ($P < 0,01$) e a DIVMS reduziu 0,016 % por mg/dm³ de P aplicado (Tabela 1 e Gráfico 3).

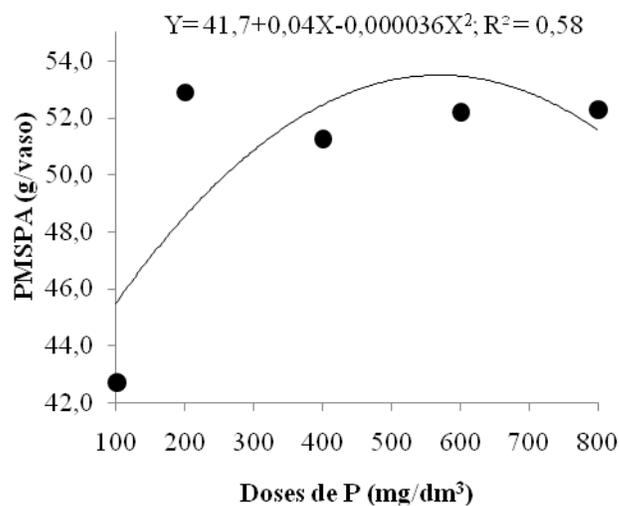


Gráfico 1 Produção de matéria seca da parte aérea (PMSPA) de *P. phaseoloides*, sob doses de P e idades de corte (● médias das idades)

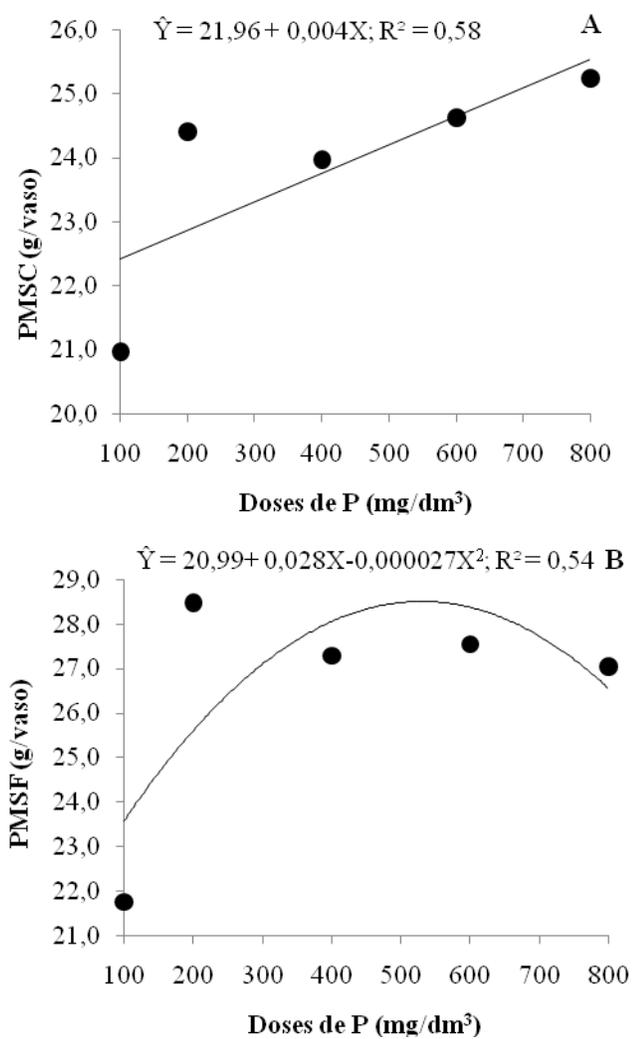


Gráfico 2 Produções de matéria seca do caule (PMSC) (A) e das folhas (PMSF) (B) de *P. phaseoloides*, sob doses de P e idades de corte (● médias das idades)

Tabela 1 Produção de matéria seca da parte aérea (PMSPA), das folhas (PMSF), e do caule (PMSC) e teores foliares de proteína bruta (PB) e digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) da leguminosa *P. phaseoloides* sob doses (D) de P e idades (I) de corte

Idade	Dose de P (mg/dm ³)					Probabilidades (P)		
	20	200	400	600	800	I	D	I x D
PMSPA (g/vaso)								
60	30,5b	38,2b	36,7b	36,8b	37,8b	<0,01	0,01	0,61
90	55,0a	67,2a	65,9a	67,7a	66,8a			
PMSF (g/vaso)								
60	15,4b	20,7b	19,6b	19,5b	18,6b	<0,01	<0,01	0,57
90	28,2a	36,3a	35,1a	35,6a	35,5a			
PMSC (g/vaso)								
60	15,1b	17,5b	17,1b	17,3b	19,2b	<0,01	<0,01	0,57
90	26,9a	31,4a	30,9a	32,0a	31,3a			
PB (% na MS)								
60	25,9b	25,0b	25,4b	26,3b	22,2b	<0,01	0,39	0,19
90	27,2a	27,4a	30,4a	29,8a	29,8a			
DIVMS (%)								
60	52,3b	51,3b	44,6b	38,3b	39,6b	<0,01	<0,01	0,09
90	52,4a	61,5a	51,9a	49,3a	49,6a			

Médias com mesma letra, na coluna, não diferem entre idades pelo teste F (P>0,05)

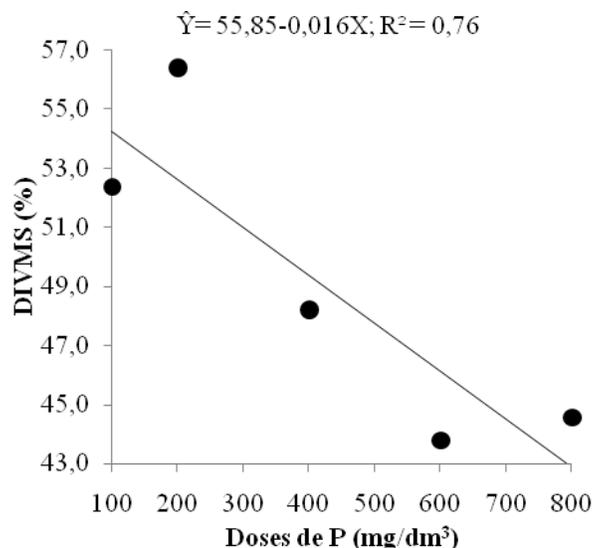


Gráfico 3 DIVMS de folhas de *P. phaseoloides*, sob doses de P e idades de corte (● médias das idades)

A FDN e a FDA responderam significativamente à interação idade x dose ($P < 0,01$). Não houve ajuste na equação da FDN aos 60 dias, no entanto, houve aumento quadrático aos 90 dias, alcançando o ponto de máxima (61,86 % na MS) na dose 536 mg/dm³ de P. Por outro lado, a FDA aumentou 0,003%MS por mg/dm³ de P aplicado, aos 60 dias e reduziu quadraticamente aos 90 dias, alcançando o ponto de mínima (27,21 % na MS) na dose 455 mg/dm³ de P (Gráfico 4).

Os teores de PB, FDN e os coeficientes de DIVMS obtidos neste trabalho estão de acordo com os obtidos por Bodgan (1977) e Nascimento & Silva (2004), cujos teores de PB ficaram entre 9,2 a 32,7%; de FDN 26,1 a 42,9%; FDA 42,61% e a DIVMS entre 43,3 e 64,3%.

Em avaliações realizadas pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT (1981), a puerária apresentou altos teores de PB (26,7%), no entanto, aproximadamente, 32,5% dessa proteína foram encontradas na FDA. A

proteína da parede celular está ligada à lignina, portanto, não disponível aos microrganismos do rúmen, afetando o valor nutritivo da planta.

A redução na DIVMS com o aumento das doses de P pode ser atribuída a um efeito de diluição do P, em função do aumento na produção de matéria seca de folhas e caules e também, devido ao aumento nos teores de FDN aos 90 dias, que dificultou o acesso dos microrganismos ao conteúdo celular.

Os baixos valores de DIVMS da leguminosa *P. phaseoloides*, obtidos neste trabalho, foram fortemente influenciados pelo aumento nos teores de FDN com o aumento da idade de corte e das doses de P. Apesar dos valores de FDN e FDA encontrados serem considerados baixos, o aumento dos constituintes da parede celular, com o amadurecimento da planta, diminui os nutrientes do conteúdo celular, que segundo Van Soest, (1967), no caso das leguminosas pode exceder em 60% o total da matéria seca.

Por outro lado, Baloyi et al. (2001) avaliando leguminosas tropicais destacaram o efeito de polifenóis na modificação da microbiota do rúmen e na complexação com proteínas, carboidratos e minerais, o que reduz ou precedem sua disponibilidade no rúmen e pós-rúmen.

No caso de *P. phaseoloides*, Nepomuceno et al. (2009) obtiveram teores de 1,14, 1,24 e 1,00% de taninos na planta, folha e haste, respectivamente. Os autores explicaram que esses teores encontram-se abaixo dos níveis ideais para promoção de efeitos benéficos como redução do timpanismo, aumento de proteína não degradada no rúmen e atividade antihelmíntica, que segundo Otero e Hidalgo (2004) oscila entre 2-4%.

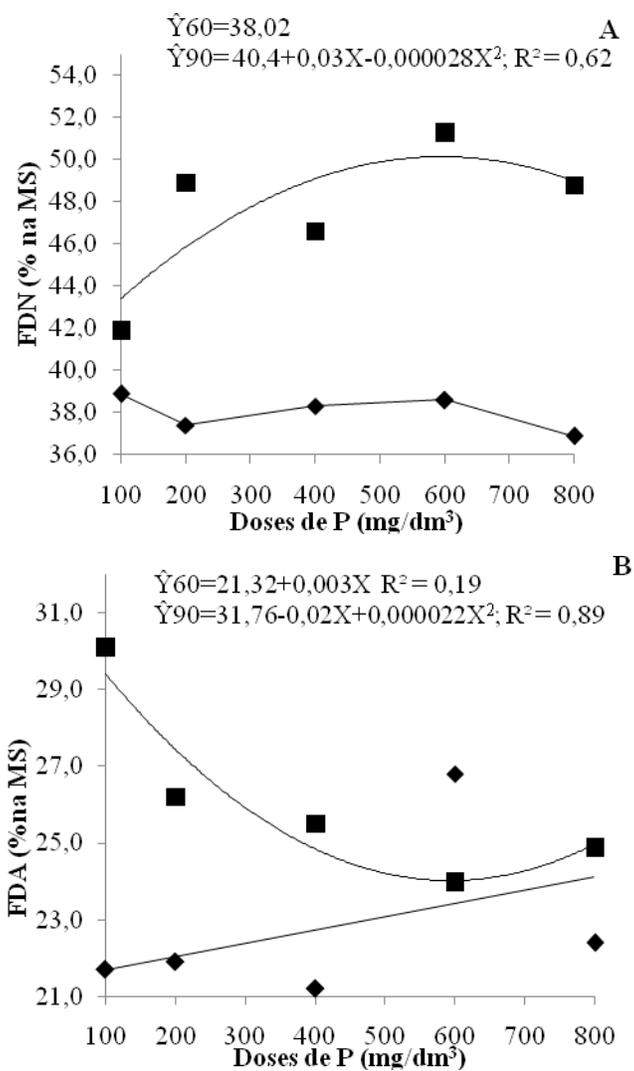


Gráfico 4 Teores de fibra em detergente neutro (FDN) (A) e fibra em detergente ácido (FDA) (B) de folhas de *P. phaseoloides*, sob doses de P e idades de corte [60 (◆) e 90 (■) dias]

Nenhuma das variáveis anatômicas das folhas de *P. phaseoloides* respondeu aos fatores dose e idade de corte (Tabela 2 e Figuras 3, 4).

Tabela 2 Dimensões dos tecidos mensurados nas folhas da leguminosa *P. phaseoloides* sob doses de P e idades de corte

Idade	Dose de P (mg/dm ³)					Probabilidades		
	20	200	400	600	800	I	D	I x D
LIMBO (µm)								
60	1040,9	959,9	932,5	974,8	999,0	0,58	0,61	0,92
90	1003,2	937,5	889,4	1029,9	913,0			
ESCNC (µm)								
60	33,3	32,5	36,8	34,2	36,1	0,18	0,80	0,92
90	35,3	36,6	36,4	38,9	38,5			
EPIABANC (µm)								
60	24,1	24,4	24,2	19,6	22,4	0,57	0,17	0,23
90	23,9	24,6	22,4	23,7	22,4			
EPIADANC (µm)								
60	17,6	17,8	17,3	14,9	16,0	0,23	0,16	0,19
90	18,5	17,8	15,7	17,5	17,6			
EPIADANMC (µm)								
60	15,7	15,4	14,3	14,4	16,7	0,20	0,34	0,29
90	15,2	15,8	16,0	16,0	16,2			
EPIABANMC (µm)								
60	18,3	18,7	17,6	15,4	18,5	0,16	0,18	0,10
90	19,6	17,4	18,5	18,4	18,2			
MES (µm)								
60	89,2	98,8	94,6	85,9	105,0	0,17	0,36	0,53
90	97,9	93,5	96,3	108,3	112,7			

Médias com mesma letra, na coluna, não diferem entre idades pelo teste F ($P > 0,05$). ESCNC (área do esclerênquima da nervura central), EPIABANC (Espessura da Epiderme abaxial da Nervura Central), EPIADANC (Espessura da Epiderme adaxial da Nervura Central), EPIADANMC (Espessura da Epiderme adaxial das nervuras de menor calibre), EPIABANMC (Espessura da Epiderme adaxial das nervuras de menor calibre), MES (Espessura do Mesófilo)

Nas fotomicrografias das secções transversais da nervura central das folhas de puerária foram exibidas fibras externas ao floema e colênquima angular. O parênquima paliçádico se encontra interrompido pelo tecido colenquimático. Circundando os feixes vasculares e as fibras a eles associadas (Figura 7), observa-se parênquima fundamental. Esta mesma organização foi apresentada em plantas de soja por Dybing e Yarrow (1984) e Leal-Costa et al. (2008).

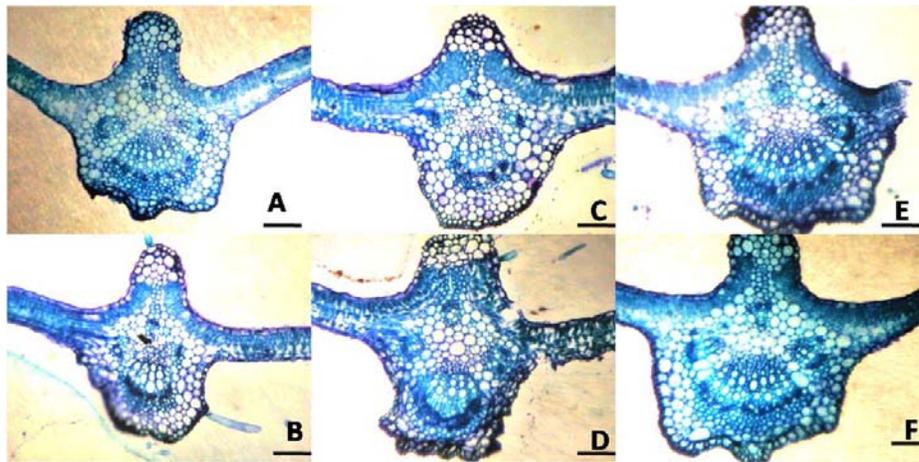


Figura 3 Fotomicrografias das secções transversais da nervura central das folhas de *P. phaseoloides*. A (60 dias, 100 mg/dm³ de P), B (90 dias, 100 mg/dm³ de P), C (60 dias, 400 mg/dm³ de P), D (90 dias, 400 mg/dm³ de P), E (60 dias, 800 mg/dm³ de P), F (90 dias, 800 mg/dm³ de P) (Barra de escala: 100µm)

A epiderme, em secção transversal, é unisseriada com células de contorno elíptico a circular nas duas faces foliares. Depressões coincidem com nervuras de menor porte. O mesofilo é do tipo dorsiventral, possuindo duas camadas de células paliçádicas, característico do gênero *Phaseoloe* (LACKEY, 1978). O parênquima lacunoso é constituído de células de tamanhos e formatos variados e com espaços intercelulares bastante pronunciados (Figura 4). Mesofilo dorsiventral também foi encontrado em plantas de soja (*GLYcine max* L. Merrill *Fabaceae*) por Leal-Costa et al. (2008), em *Pueraria lobata*, por Pereira Neto, Gabriele e Pinto (1997, 1999).

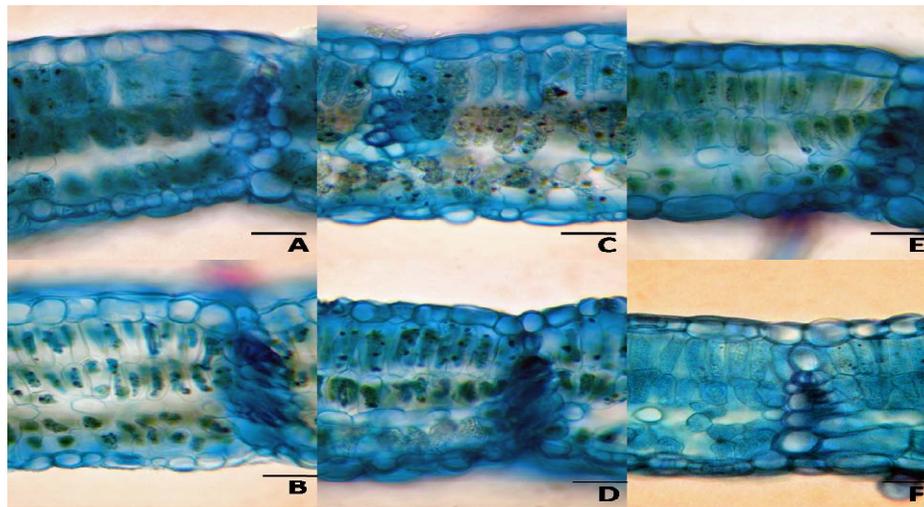


Figura 4 Fotomicrografias das secções transversais das folhas de *P. phaseoloides*. A (60 dias, 100 mg/dm³ de P), B (90 dias, 100 mg/dm³ de P), C (60 dias, 400 mg/dm³ de P), D (90 dias, 400 mg/dm³ de P), E (60 dias, 800 mg/dm³ de P), F (90 dias, 800 mg/dm³ de P) (Barra de escala: 50µm)

As espessuras das epidermes abaxial e adaxial encontradas neste trabalho (20,97 e 17,07 μm , respectivamente), foram muito superiores as obtidas por Leal-Costa et al. (2008) em soja cv. BR16 convencional e transgênica (*G. max*), cujas médias foram 13,21 e 9,01 (epidermes abaxial e adaxial, respectivamente). Esses resultados evidenciam a necessidade de estudos anatômicos como importante ferramenta de controle de qualidade no melhoramento de leguminosas forrageiras, uma vez que a epiderme é uma barreira à colonização e entrada de microrganismos do rúmen na célula vegetal, afetando conseqüentemente, a digestibilidade da forragem.

Por outro lado, a espessura do mesofilo variou de 89 a 113 μm , enquanto que as de soja cv. BR16 convencional e transgênica (*G. max*), obtidas por Leal-Costa et al. (2008) apresentaram espessura de mesofilo em média, 160 μm . O mesofilo é um dos caracteres anatômicos mais importantes quando se compara o valor nutritivo à anatomia de plantas, uma vez que os parênquimas clorofilianos, que constituem as células do mesofilo, possuem parede delgada e não-lignificada, sendo este, portanto, um dos primeiros tecidos a sofrer digestão.

O teor foliar de P aumentou 0,0005 g/kg por mg/dm^3 de P aplicado, ressaltando que P não foi um nutriente limitante neste experimento (Tabela 3 e Gráfico 5).

Os teores de K e Cu responderam significativamente à interação idade x dose ($P < 0,01$).

Os níveis de K reduziram 0,004 g/kg por mg/dm^3 de P aplicado, aos 60 dias e aumentaram 0,002 g/kg por mg/dm^3 de P aos 90 dias (Gráfico 5).

Os teores de Cu reduziram 0,007 mg/kg por mg/dm^3 de P aplicado, aos 60 dias e aumentaram quadraticamente, aos 90 dias, com ponto de máxima (11,11 mg/kg) ocorrendo na dose 500 mg/dm^3 de P (Gráfico 6).

O teor de Ca reduziu com o aumento da idade de corte, enquanto o de Mn aumentou, sugerindo que ao fim do experimento pode ter ocorrido um aumento no pH do solo e redução na capacidade de troca catiônica.

Os nutrientes Mg e Zn não apresentaram resposta significativa a nenhum dos fatores avaliados (Tabela 3).

Tabela 3 Teores foliares de P, K, Ca, Mg, Cu, Mn, Zn da leguminosa *P. phaseoloides* sob doses de P e idades de corte

Idade	Dose de P (mg/dm ³)					Probabilidades (P)		
	20	200	400	600	800	I	D	I x D
P (g/kg)								
60	2,37	2,47	2,40	2,60	2,42	0,95	0,02	0,06
90	2,07	2,15	2,62	2,65	2,75			
Ca (g/kg)								
60	8,62a	7,75a	8,12a	9,42a	7,97a	<0,01	0,54	0,59
90	6,97b	6,15b	6,42b	6,67b	7,62b			
Mg (g/kg)								
60	2,2	2,0	2,2	2,2	1,9	0,41	0,71	0,59
90	2,2	2,0	2,2	2,2	2,2			
Mn (mg/kg)								
60	163,0b	149,6b	177,6b	196,8b	162,0b	0,03	0,26	0,27
90	173,6a	190,0a	203,2a	211,0a	234,7a			
Zn (mg/kg)								
60	51,0	42,3	46,1	46,2	47,6	0,60	0,20	0,27
90	58,6	54,7	43,2	46,2	38,8			

Médias com mesma letra, na coluna, não diferem entre idades pelo teste F (P>0,05)

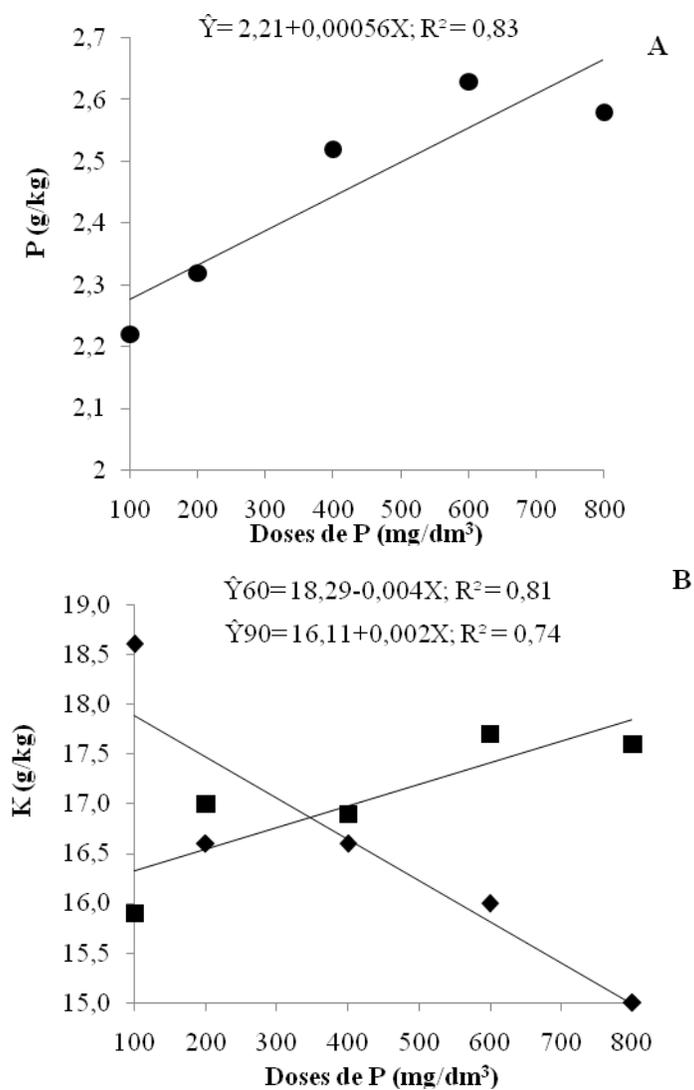


Gráfico 5 Teores de P (A) e K (B) nas folhas de *P. phaseoloides*, sob doses de P e idades de corte [60 (◆) e 90 (■) dias, (● médias das idades)]

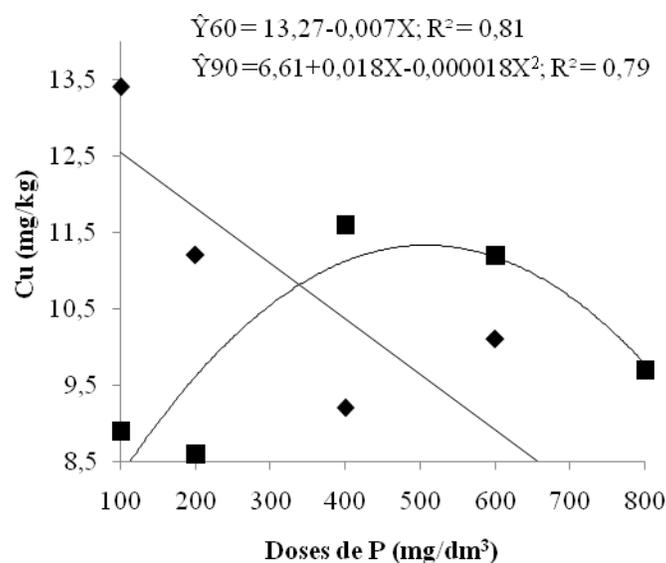


Gráfico 6 Teor de Cu nas folhas de *P. phaseoloides*, sob doses de P e idades de corte [60 (◆) e 90 (■) dias]

Os coeficientes de correlação de Pearson obtidos neste trabalho mostraram correlação positiva entre FDN e esclerênquima e entre DIVMS e epiderme abaxial da nervura central (Tabela 4).

Tabela 4 Coeficientes de correlação de Pearson dos teores de fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN), digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e proteína bruta (PB) com os tecidos mensurados na folha da leguminosa *P. phaseoloides* sob doses de P e idades de corte

Tecidos	PB	FDN	FDA	DIVMS
ESC	0,25	0,36**	0,13	0,04
EPABNC	0,09	0,10	-0,13	0,32**

ESC (esclerênquima), EPABNC (epiderme abaxial da Nervura Central). **P<0,05

Como o esclerênquima é um tecido cuja principal característica é a presença de paredes secundárias com espessamento, as células do esclerênquima podem ser de dois tipos: os esclereídeos e as fibras (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009), no caso de *P. phaseoloides*, foi observada a presença de fibras, por isso a correlação positiva entre FDN e esclerênquima. Segundo Wilson (1994) o esclerênquima produz grande efeito na qualidade da forrageira, em decorrência da grande espessura de sua parede celular e o espessamento da parede celular secundária observado com a maturação dos tecidos vegetais resulta no incremento da FDN em detrimento do conteúdo celular (BRITO; RODELLA, 1999).

A correlação positiva entre DIVMS e a epiderme abaxial da nervura central pode ser atribuída às menores espessuras de epiderme, com cerca de 16µm, uma vez que epiderme é uma das barreiras anatômicas ao processo de colonização e penetração dos microrganismos do rúmen.

Houve interação significativa entre idade x dose ($P < 0,01$) para FDA e DIVMS do caule de *P. phaseoloides*, a FDN aumentou com as idades de corte e o teor de FDA reduziu 0,004% da MS por mg/dm^3 de P aplicado, aos 60 dias, e aos 90 dias, aumentou quadraticamente, em função das doses de P, alcançando valor máximo (44,37% na MS), na dose 417 mg/dm^3 de P. (Tabela 5 e Gráfico 7).

Tabela 5 Teores caulinares de fibra em detergente neutro (FDN) e proteína bruta (PB) da leguminosa *P. phaseoloides* sob doses de P e idades de corte

Idade	Dose de P (mg/dm ³)					Probabilidades		
	20	200	400	600	800	I	D	I x D
FDN (% na MS)								
60	59,9b	60,2b	60,9b	61,3b	60,4b	<0,01	0,21	0,58
90	64,9 ^a	61,7a	65,7a	65,9a	63,5a			
PB (% na MS)								
60	16,2	16,6	16,3	14,9	14,2	0,59	0,04	0,97
90	16,5	17,1	15,9	15,2	14,8			

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo Teste F (P> 0,05)

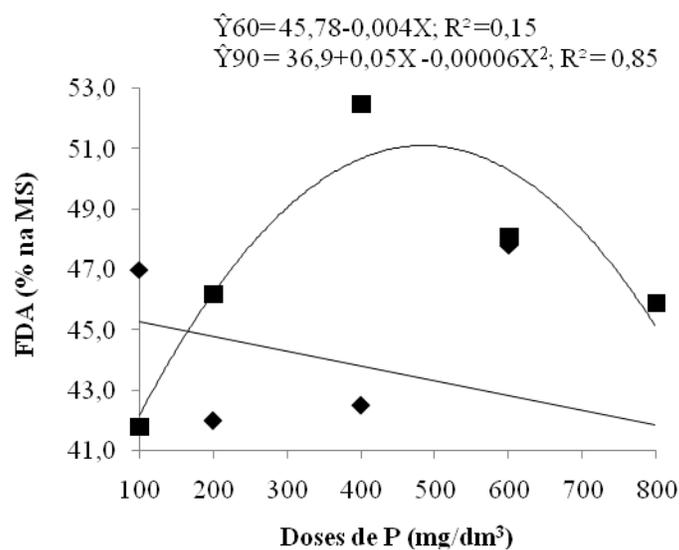


Gráfico 7 Teor de fibra em detergente ácido (FDA) do caule de *P. phaseoloides*, sob doses de P e idades de corte [60 (◆) e 90 (■) dias]

O teor de PB reduziu 0,003% da MS por mg/dm³ de P aplicado e a DIVMS aumentou 0,017 %, por mg/dm³ de P aplicado, aos 60 dias; aos 90 dias não houve ajuste na equação (Gráfico 8).

A aplicação de P promoveu maior deposição de fibras no caule, aumentando a lignificação dos tecidos, e, conseqüentemente reduzindo os teores de PB.

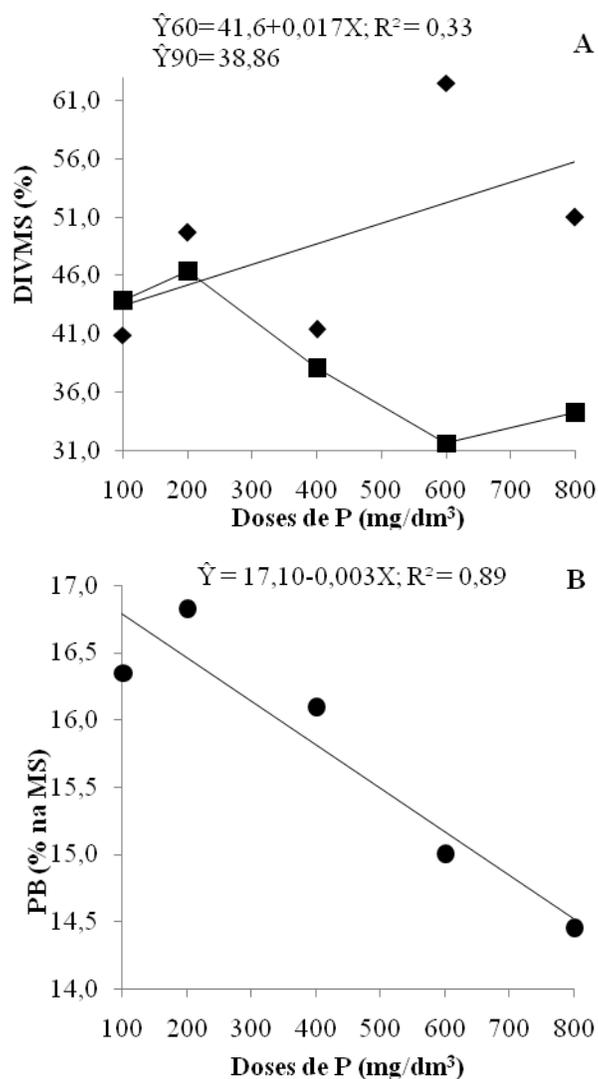


Gráfico 8 Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) (A) e proteína bruta (PB) (B) do caule de *P. phaseoloides*, sob doses de P e idades de corte [60 (◆) e 90 (■) dias (● médias das idades)]

Observou-se nos cortes transversais de caule (Figura 5) que o colênquima é do tipo angular, cujos espessamentos ocorrem nos ângulos das células (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009), e há a formação de um anel esclerenquimático abaixo da epiderme e acima dos feixes vasculares.

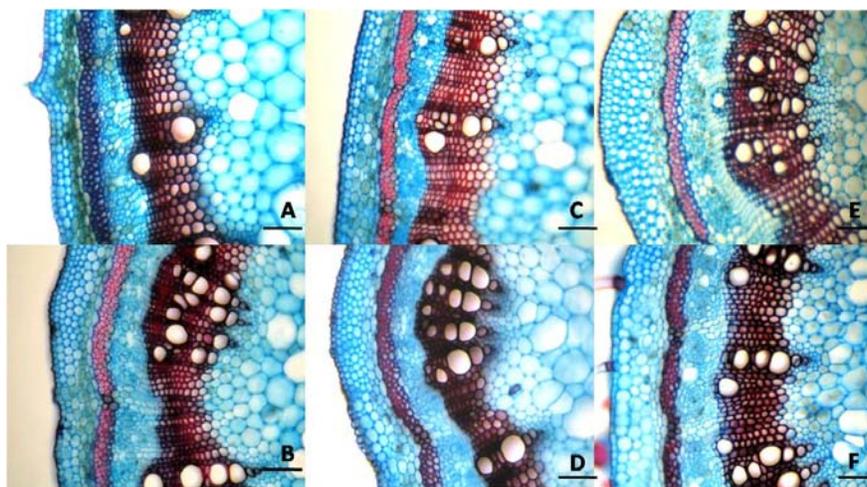


Figura 5 Fotomicrografias de seções transversais de caule de *P. phaseoloides*. A (60 dias, 100 mg/dm³ de P), B (90 dias, 100 mg/dm³ de P), C (60 dias, 400 mg/dm³ de P), D (90 dias, 400 mg/dm³ de P), E (60 dias, 800 mg/dm³ de P), F (90 dias, 800 mg/dm³ de P)

A espessura do esclerênquima, o diâmetro do caule e a distância entre feixes vasculares não apresentaram resposta a nenhum dos fatores avaliados (Tabela 6).

Tabela 6 Dimensões dos tecidos mensurados nos caules da leguminosa *P. phaseoloides* sob doses de P e idades de corte

Idade	Dose de P (mg/dm ³)					Probabilidades		
	20	200	400	600	800	I	D	I x D
ESC (µm)								
60	34,5	33,7	38,5	44,2	36,6	0,48	0,29	0,32
90	39,8	37,5	44,9	37,5	35,6			
Diâmetro do caule (µm)								
60	1945,2	2212,0	2082,9	2380,8	1985,2	0,99	0,55	0,59
90	1997,2	2054,9	2323,5	2109,4	2126,2			
DFV (µm)								
60	175,6	154,4	205,7	162,7	184,9	0,78	0,95	0,07
90	169,2	202,8	164,7	194,9	166,3			

Médias com mesma letra não diferem entre idades pelo teste F (P<0,05).ESC (Espessura do esclerênquima), DFV (distância entre feixes vasculares)

A espessura da epiderme e a distancia entre epiderme e esclerênquima responderam significativamente a interação idade x dose (P<0,01) (Gráfico 9). Tanto a espessura da epiderme quanto a distância entre epiderme e esclerênquima aumentaram com as doses de P. Aos 60 dias o maior valor de espessura da epiderme (17,67 µm), ocorreu com a dose 267 mg/dm³ de P; aos 90 dias não houve ajuste para a equação. A distância entre epiderme e esclerênquima aumentou linearmente aos 60 dias, com incremento de 0,067 µm por mg/dm³ de P aplicado; aos 90 dias não houve ajuste para a equação.

O aumento da espessura da epiderme e da distância entre epiderme e esclerênquima pode ser atribuído ao processo de lignificação que foi provocado pelo incremento nas doses de P.

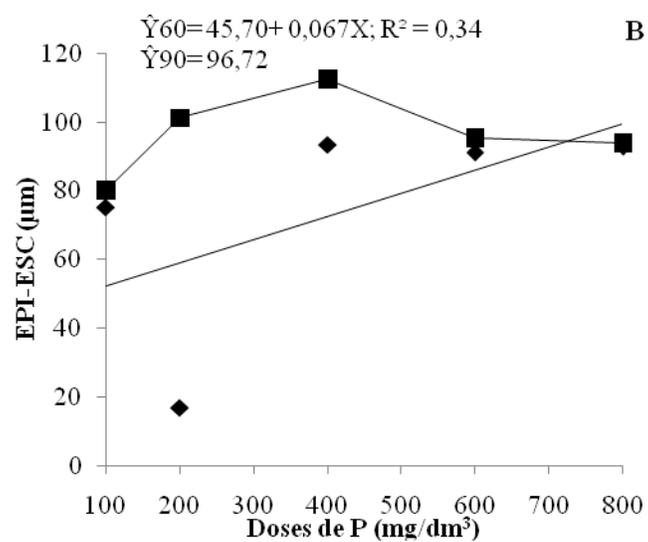
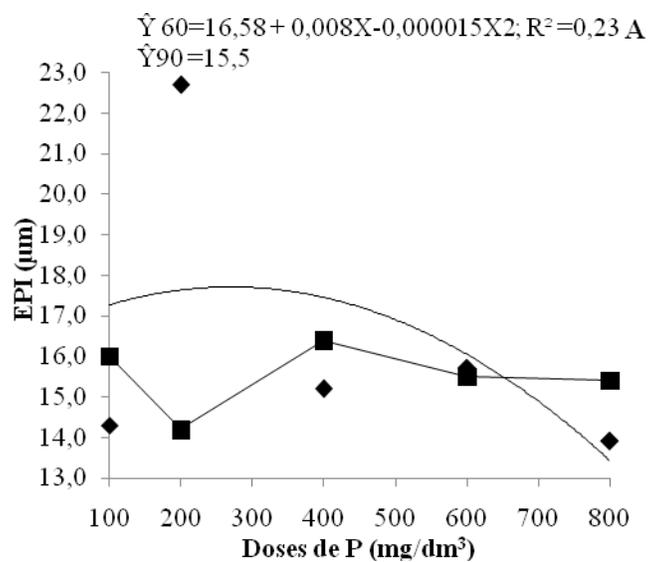


Gráfico 9 Espessura da epiderme (EPI) (A) e distância entre epiderme e esclerênquima (EPI-ESC) (B) do caule de *P. phaseoloides* sob doses de P e idades de corte 60 (◆) e 90 (■) dias

No caule houve redução nos teores de P, Mg e Cu e aumento nos níveis de Mn e Zn, com o aumento da idade de corte (Tabela 7). O micronutriente Mn apresentou aumento linear com as doses de P com incrementos de 0,093 mg/kg por mg/dm³ de P aplicado (Gráfico 10).

Tabela 7 Teores caulinares de P, K, Ca, Mg, Cu, Mn, Zn da leguminosa *P. phaseoloides* sob doses de P e idades de corte

Idade	Dose de P (mg/dm ³)					Probabilidades (P)		
	20	200	400	600	800	I	D	I x D
P (g/kg)								
60	2,37a	2,15a	2,17a	2,30a	2,15a	<0,01	0,37	0,16
90	1,65b	1,62b	1,82b	1,95b	2,10b			
K(g.kg ⁻¹)								
60	18,9	17,6	16,9	16,6	16,9	0,07	0,14	0,71
90	16,9	17,0	16,9	14,9	16,4			
Ca (g/kg)								
60	6,8	6,9	6,6	6,9	7,7	0,10	0,62	0,34
90	7,4	6,9	8,2	7,6	7,4			
Mg(g/kg)								
60	1,3a	1,3a	1,3a	1,4a	1,5a	<0,01	0,28	0,44
90	1,1b	1,0b	1,2b	1,2b	1,2b			
Cu (mg/kg)								
60	11,8a	9,4a	8,7a	8,9a	7,3a	<0,01	0,11	0,09
90	6,6b	6,0b	6,7b	7,9b	6,7b			
Mn (mg/kg)								
60	147,2b	172,7b	180,8b	171,6b	231,1b	<0,01	<0,01	0,38
90	189,8a	203,9a	255,3a	258,5a	250,9a			
Zn (mg/kg)								
60	60,4b	54,8b	57,8b	54,3b	47,1b	<0,01	0,08	0,10
90	79,7a	72,1a	61,7a	71,3a	65,4a			

Médias com mesma letra não diferem entre idades pelo teste F (P<0,05)

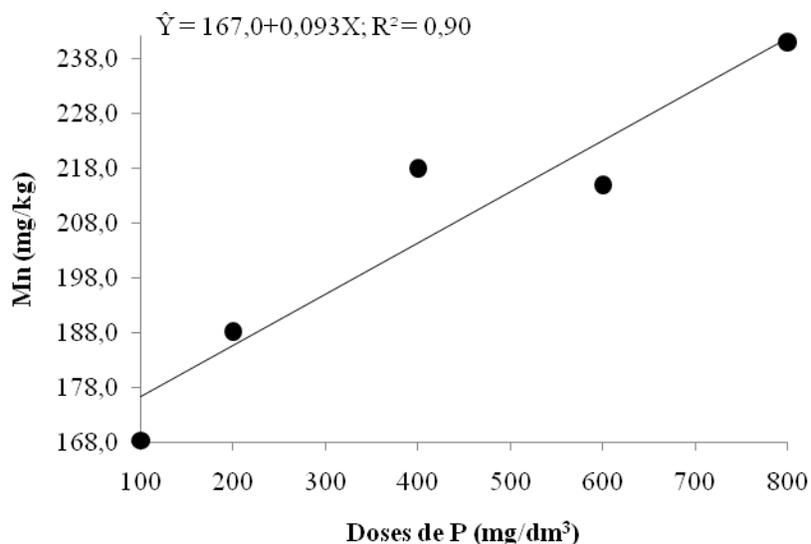


Gráfico 10 Teor de Mn no caule de *P. phaseoloides*, sob doses de P (● médias das idades)

Observou-se correlação positiva da distância entre epiderme e esclerênquima com os teores de fibra (FDN e FDA) e do diâmetro do caule com a FDA (Tabela 8).

Tabela 8 Coeficientes de correlação de Pearson dos teores de fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN), digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) e proteína bruta (PB) com os tecidos mensurados no caule da leguminosa *P. phaseoloides* sob doses de P e idades de corte

Tecidos	DIVMS	FDN	FDA	PB
DIÂMETRO	0,08	-0,01	0,37***	0,03
EPI-ESC	-0,25	0,39***	0,29**	-0,10

EPI-ESC (Distância entre epiderme e esclerênquima). **P<0,05; ***P<0,01

4 CONCLUSÕES

A leguminosa apresenta melhor valor nutritivo aos 90 dias que aos 60 dias em decorrência do amplo desenvolvimento vegetativo proporcionado pelo fósforo que induziu o aparecimento de novas brotações.

A aplicação de fósforo proporciona aumento na lignificação nas folhas e caules e na espessura da epiderme o que evidencia aumento nos teores de FDN e FDA na planta.

Há correlações positivas entre diâmetro do caule e distância entre epiderme e esclerênquima com os teores de fibra (FDN e FDA).

REFERÊNCIAS

- AKIN, D. E. Rumen microbial degradation of grass tissue revealed by scanning electron microscopy. **Agronomy Journal**, Madison, v. 65, p. 825-828, 1973.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. Arlington, 1995. v. 1, 684 p.
- _____. _____. Washington, 1980. 1015 p.
- BALOYI, J. J. et al. Condensed tannin and saponin content of *Vigna unguiculata* (L.) Walp, *Desmodium uncinatum*, *Stylosanthes guianensis* and *Stylosanthes scabra* grown in Zimbabwe. **Tropical Animal Health and Production**, Dordrecht, v. 33, n. 1, p. 55-66, Apr. 2001.
- BODGAN, A. V. **Tropical pasture and fodder plants**. London: Logman, 1977. 475 p.
- BRITO, C. J. F. A. de; RODELLA, R. A. Quantificação anatômica da folha e do colmo de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola* em três níveis de inserção. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBZ, 1999. p. 41.
- CARVALHO, P.C.F. O manejo da pastagem como gerador de ambientes Pastoris adequados à produção animal. In: Simpósio sobre Manejo da Pastagem, 22, 2005, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2005. p.7-32.
- CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009. 234 p.
- CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. **Programa de pastos tropicales**. Cali, 1981. 302 p.
- COSTA, A. L. da et al. **Comportamento produtivo de *Brachiaria humidicola* no Acre**. Rio Branco: EMBRAPA-UEPAE, 1980. 3 p. (Comunicado Técnico, 19).
- COSTA, N. L. et al. **Efeito de doses e fontes de fósforo na recuperação de pastagens de *Andropogon gayanus* cv. Planaltina**. Rio Branco: EMBRAPA-CPAF, 2000. 2 p.

DYBING, C. D.; YARROW, G. L. Mophactin effects on soybean leaf anatomy and chlorophyll content. **Journal of Plant Regulation**, New York, v. 3, n. 1/4, p. 9-21, Jan. 1984.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 300 p.

KRAUS, J. E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: Edur, 1997. 221 p.

LACKEY, J. A. Leaflet anatomy of Phaseolae (Leguminosae: Papilionoideae) and its relation to taxonomy. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 139, p. 436-446, 1978.

LEAL-COSTA, M. V. et al. Anatomia foliar de plantas transgênicas e não transgênicas de *Glycine Max* (L) Merrill (Fabaceae). **Revista Biociências**, Taubaté, v. 14, n. 1, p. 23-31, set. 2008.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: POTAFÓS, 1997. 319 p.

NASCIMENTO, J. T.; SILVA, I. F. Avaliação quantitativa da fitomassa de leguminosas para uso como cobertura do solo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 947-949, maio/jun. 2004.

NEPOMUCENO, D. D. et al. Recuperação de taninos condensados de três espécies de leguminosas forrageiras tropicais. In: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E DE PÓS-GRADUAÇÃO, 12., 2009, São José dos Campos. **Anais...** São José dos Campos: UNIVAP, 2009. Disponível em: <http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2009/anais/arquivos/RE_0381_0899_01.pdf>. Acesso em: 8 nov. 2010.

OTERO, M.; HIDALGO, L. G. Taninos condensados em espécies forrageiras de clima templado: efectos sobre La productividad de rumiantes afectados por parasitosis gastrointestinales: una revisión. **Livestock Research of Rural Development**, Cali, v. 16, n. 2, p. 1-9, 2004.

PEREIRA NETO, A. B.; GABRIELE, A. C.; PINTO, H. S. Aspects of leaf anatomy of kudzu (*Pueraria lobata*, Leguminosae-Faboideae) related to water and energy balance. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 8, p. 1361-1365, ago. 1999.

_____. Aspects of leaf anatomy of tropical kudzu related to water and energy balance. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 7, p. 689-693, jul. 1997.

PIMENTEL, D. M. et al. Adubação do capim elefante (*Penisetum purpureum* SCHUM.) puro e consorciado com kudzu tropical (*Pueraria phaseoloides*). In: SIMPÓSIO DO TRÓPICO ÚMIDO, 1., 1986, Belém. **Anais...** Belém: EMBRAPA-CPATU, 1986. p. 93-99.

RODELLA, R. A.; ISHIY, C. M.; MAIMONI, R. C. S. Estudo quantitativo de características anatômicas de folhas de duas espécies de *Brachiaria*. **Revista Agrocência**, Pelotas, v. 2, n. 2, p. 21-30, 1982.

SALERNO, A. R.; VETTERLE, C. P. **Leguminosas perenes de estação quente para o Baixo Vale do Itajaí**. Florianópolis: EMPASC, 1983. 4 p. (EMPASC. Pesquisa em Andamento, 14).

SOEST, P. J. van. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forages. **Journal of Animal Science**, Madison, v. 26, p. 119-128, 1967.

_____. Use of detergents in the analysis of fibrous foods: II., a rapid method for the determination of fiber and lignin. **Journal of the Association of the Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 46, p. 829-835, 1963.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS/STAT user's guide**. Version 6.11. Cary, 1996. v. 2, 842 p.

TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**, Oxford, v. 18, p. 104-111, 1963.

VALENTIM, J. F.; CARNEIRO, J. da C. *Pueraria phaseoloides* e *Calopogonium mucunoides*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 17., 2000, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2000. p. 359-390.

VALENTIM, J. F.; COSTA, A. L. da. **Consortiação de gramíneas e leguminosas forrageiras no Acre**. Rio Branco: EMBRAPA-UEAPE, 1982a. 26 p. (EMBRAPA-UEPAE. Boletim de Pesquisa, 2).

_____. **Formação, recuperação, melhoramento e manejo de pastagens no Acre**. Rio Branco: EMBRAPA-UEPAE, 1980. 6 p. (EMBRAPA-UEPAE. Pesquisa em Foco, 1).

_____. **Recuperação, melhoramento e manejo de pastagens no Acre**. Rio Branco: EMBRAPA-UEAPE, 1982b. 33 p. (EMBRAPA-UEPAE. Circular Técnica, 5).

VALENTIM, J. F. et al. **Utilização de puerária na alimentação de bovinos**. Rio Branco: EMBRAPA-UEAPE, 1984. 5 p. (Comunicado Técnico, 34).

VALENTIM, J. F.; MOREIRA, P. **Vantagens e limitações dos capins Tanzânia-1 e Mombaça para a formação de pastagens no Acre**. Rio Branco: EMBRAPA-CPAF, 1994. 3 p. (EMBRAPA-CPAF. Comunicado Técnico, 60).

WERNER, J. C. Adubação de pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE CALAGEM E ADUBAÇÃO DE PASTAGENS, 11., 1994, Nova Odessa. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1994. p. 209-222.

WILSON, J. R. Cell wall characteristics in relation o forage digestion by ruminants. **Journal of Agricultural Science**, Madison, v. 122, n. 2, p. 173-182, Apr. 1994.

Artigo redigido conforme norma da Revista Brasileira de Ciência do Solo

**AVALIAÇÕES DE PRODUÇÃO, ANATOMIA E VALOR NUTRITIVO
DE FOLHA E CAULE DE *Calopogonium mucunoides* Desv. EM
RESPOSTA A FÓSFORO E IDADES**

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o efeito de doses de P e idades de corte na produção de matéria seca, anatomia e valor nutritivo de folha e caule de *Calopogonium mucunoides* Desv., conduziu-se um experimento inteiramente casualizado com quatro repetições, em esquema fatorial 2 x 5, sendo duas idades de corte (60 e 90 dias) e cinco doses de P (100, 200, 400, 600 e 800 mg/dm³). Foram confeccionadas lâminas de folhas e as secções foram fotomicrografadas. A mensuração dos tecidos foi feita com o uso do *software* ImageTool. Foram medidas as espessuras da epiderme abaxial e adaxial, do limbo foliar, do esclerênquima da nervura central e do mesofilo, e nos caules foram medidas: as espessuras do esclerênquima e da epiderme, distâncias entre epiderme e esclerênquima e entre feixes vasculares e diâmetro do caule. Determinou-se a produção de matéria seca (MS), os teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e as concentrações P, K, Ca, Mg, Cu, Mn e Zn. A idade e as doses de P proporcionaram aumento na produção de matéria seca, contudo, houve queda no valor nutritivo da folha e caule com aumentos na FDN, FDA e redução na DIVMS. A aplicação de P e o aumento da idade proporcionaram maior maturação dos tecidos, tanto foliares, quanto caulinares, com aumento na espessura da epiderme abaxial da folha, do esclerênquima e do mesofilo e aumento na espessura do esclerênquima, epiderme e distância epiderme esclerênquima no caule. Redução nos teores de K e Cu com o aumento das doses de P. Houve correlação positiva entre FDN, FDA com espessura da epiderme abaxial e da FDA com a distância entre epiderme e esclerênquima.

Palavras-chave: Epiderme. Esclerênquima. Digestibilidade. Leguminosa. Cálcio.

ABSTRACT

Aiming to evaluate the effect of P rates and cutting ages in dry matter production, anatomy, and nutritive value of leaf and stem of *Calopogonium mucunoides* Desv, it was conducted a completely randomized design with four replications in factorial scheme with 2 x 5, and two cutting ages (60 and 90 days) and five phosphorus levels (100, 200, 400, 600 and 800 mg/dm³). Slides were made of leaves and stems, the sections were microphotographed. The measurement of tissue was performed using the software ImageTool. It was measured the thickness of mesophyll (MES), of the epidermis and the bundle sheath distance, and in the stems: epidermis and sclerenchyma distance and the thickness of the epidermis and the sclerenchyma and stem diameter. It was determined the values of dry matter production (DM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) levels, in vitro dry matter digestibility (IVDMD) and P, K, Ca, Mg, Cu, Mn and Zn concentrations. P application provides an increase in dry matter, however, there was a reduction in steam and leaf nutritive value, with increases of NDF, ADF and reduction in IVDMD. The P application and cutting ages provides more maturation of the tissues, from the leaf and the stem. There was increase in lower epidermis, sclerenchyma and mesophyll thicknesses, from leaf, and increase in sclerenchyma, and epidermis thicknesses and epidermis and sclerenchyma distance, from steam. There was a reduction in K and Cu levels and positive correlations into NDF, ADF with upper epidermis thickness and into ADF with epidermis and sclerenchyma distance.

Keywords: Sclerenchyma. Epidermis. Digestibility. Legume. Calcium.

1 INTRODUÇÃO

Os baixos níveis de fósforo (P) disponíveis e total nos solos de pastagem, em parte, se devem a alta capacidade de adsorção desse elemento, devido, principalmente, a acidez e aos teores elevados de óxidos de ferro (Fe) e alumínio (Al) do solo. É natural que, em tais circunstâncias, a adubação fosfatada seja necessária (CORRÊA; HAAG, 1993).

A espécie *Calopogonium mucunoides* é uma leguminosa que vem sendo amplamente empregada em consorciação com gramíneas, principalmente nas regiões Norte e Centro-Oeste. Segundo Seiffert (1982), os rendimentos de forragem estão em torno de 3 a 6 e 1 a 2 t/ha de MS, respectivamente, para os períodos chuvoso e seco do ano.

O calopogônio é uma leguminosa de crescimento vigoroso e forma consorciações compatíveis e persistentes com capim-colonião (*Panicum maximum*), quicuío-da-Amazônia (*Brachiaria humidicola*), braquiarião (*B. brizantha* cv. Marandu), capim-andropogon (*Andropogon gayanus* cv. Planaltina) e capim-elefante (*Pennisetum purpureum*), de grande importância sobretudo nas Regiões Sudeste e Centro-Oeste do Brasil e para as quais a disponibilidade de N é um fator crítico (VALENTIM; CARNEIRO, 2000).

Para o sucesso de sistemas consorciados de pastejo é necessária a formação de um banco de dados que possa servir de base para a melhoria da adaptação e implantação de leguminosas em pastejo. Poucas informações se têm a respeito da composição químico-bromatológica e anatomia das leguminosas utilizadas em pastagem no Brasil.

De acordo com Akin (1989), folhas de certas leguminosas ou cultivares com altas concentrações de taninos são pouco degradadas, com o mesofilo e feixes vasculares comprimindo o resíduo das folhas. O parênquima nos caules

das leguminosas é totalmente degradado, deixando um resíduo de um halo cilíndrico circundado por um anel lignificado uniformemente.

Devido à necessidade de coletar informações que possam auxiliar em futuras pesquisas de melhoramento genético de leguminosas e dos sistemas de consorciação, realizou-se um estudo a cerca dos efeitos de aplicações de doses de P e idades de corte na produção de matéria seca, composição químico-bromatológica e anatomia do calopogônio.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em vasos, em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo (DCS) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). A leguminosa *C. mucunoides* foi cultivada em vasos de 4 dm³ em amostras de um Latossolo Vermelho distroférico, textura argilosa, cujas características químicas do solo foram: pH: 5,3; Ca: 0,3 mg/dm³; Mg: 0,1 mg/dm³; Al: 0,7 mg/dm³; Al+H: 7,0 mg/dm³; P: 1,4 mg/dm³; K: 16 mg/dm³; CTC: 7,4 mg/dm³; Cu: 1,2 mg/dm³; Zn: 0,3 mg/dm³; Mn: 1,7 mg/dm³; Fe: 25,8 mg/dm³; B: 0,1 mg/dm³; S: 9,3 mg/dm³; V: 5,9 %; MO: 2,4 dag.kg⁻¹; P-rem: 9,9 mg/L.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 2 x 5, sendo duas idades de corte (60 e 90 dias após o desbaste) e cinco doses de P (100, 200, 400 600 e 800 mg/dm³), na forma de sais P.A.

A acidez do solo foi corrigida com calcário dolomítico para elevar a saturação por bases para 60%. Uma adubação básica foi aplicada antes da semeadura e constou de 80 mg de N; 80 mg de K; 40 mg de S; 0,8 mg de B; 1,5 mg de Cu; 3,5 mg de Mn; 5,0 mg de Zn e 0,15 mg de Mo por dm³ de solo, usando-se fontes de sais P.A. As doses de fósforo foram aplicadas concomitantemente à adubação básica. Em seguida, foram semeadas 10 sementes, desbastando-se para cinco plântulas aos 15 dias após a emergência. Foram aplicadas adubações em cobertura com 200 mg/dm³ de N e K, parceladas em quatro vezes, duas semanas antes de cada corte.

Em cada idade de corte, a parte aérea das plantas foi cortada ao nível do solo e separada em folhas e caules. As folhas e caules foram colocados em estufa de circulação forçada de ar à temperatura de 65°C, pesados e moídos para análise laboratorial.

Foram coletadas as terceiras folhas da brotação terminal obedecendo ao padrão utilizado por Pereira Neto, Gabriele e Pinto (1999) e os caules foram retirados da porção localizada imediatamente acima da inserção da folha supramencionada. As folhas e caules amostrados foram fixados em solução de formaldeído, ácido acético e etanol 70% (JOHANSEN, 1940), por 48 horas e, em seguida, preservadas em etanol 70%, até a data das análises. Os fragmentos de folha e caule foram utilizados para a realização de cortes transversais em micrótomo de mesa.

Os cortes foram clarificados com hipoclorito de sódio a5%, por 10 min, reidratados por 10 min, corados com safrablau (solução de safranina e azul de Astra 7,5:2,5) e montados em lâminas com glicerina 50% (KRAUS; ARDUIN, 1997). Foi utilizado microscópio óptico acoplado a uma câmera digital, com a qual foram realizadas fotografias dos cortes. Estas foram utilizadas para as medições dos parâmetros anatômicos, pelo programa de análise de imagem Image Tool (UTHSCSA, San Antonio, Texas, USA), calibrado com régua microscópica fotografada nos mesmos aumentos das fotografias.

As características anatômicas mensuradas nas folhas (Figura 1) foram: as espessuras do limbo foliar, do esclerênquima da nervura central, do mesofilo, das epidermes abaxial e adaxial, e nos caules (Figura 2) foram: espessuras do esclerênquima e da epiderme, distâncias entre epiderme e esclerênquima e entre feixes vasculares e diâmetro do caule.

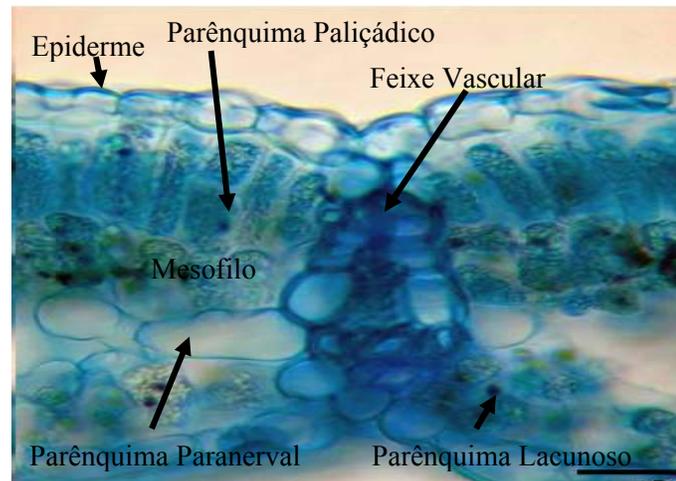


Figura 1 Fotomicrografia da secção transversal de folha do *C. mucunoides* com indicações dos principais tecidos

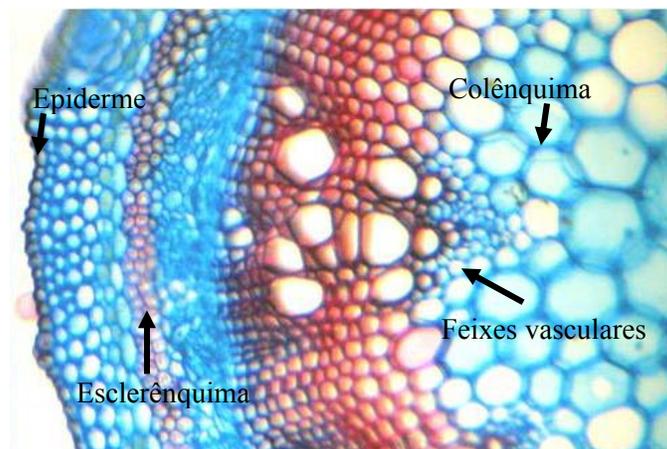


Figura 2 Fotomicrografia da secção transversal do caule de *C. mucunoides* com indicações dos principais tecidos

Foram realizadas análises bromatológicas para determinação das concentrações de matéria seca (MS) (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC, 1980), o teor de proteína bruta (PB) foi determinado pelo método semi-micro Kjeldahl (AOAC, 1995), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), conforme metodologias descritas por Soest (1963); os valores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) das folhas e colmos das gramíneas, conforme metodologia de Tilley e Terry (1963).

A determinação das concentrações P, K, Ca, Mg, Cu, Mn e Zn nas folhas e caules foram realizadas de acordo com a metodologia descrita em Malavolta, Vitti e Oliveira (1997).

Foi realizada a análise de variância dos dados pelo procedimento GLM do SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS INSTITUTE - SAS INSTITUTE, 1996) e as médias de idade foram comparadas pelo Teste F ($P < 0,05$). Foi realizado estudo de regressão nas médias de doses. As variáveis anatômicas foram submetidas à correlação linear de Pearson com os valores de FDN, FDA, PB e DIVMS.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As produções de matéria seca da parte aérea, das folhas e do caule e o teor de proteína bruta responderam significativamente à interação idade x dose ($P < 0,01$) (Gráficos 1 e 2). Houve aumento linear aos 60 dias, com incrementos de 0,019; 0,011 e 0,008 g/vaso por mg/dm^3 de P aplicado, respectivamente para produção de matéria seca da parte aérea, das folhas e do caule. Aos 90 dias, ocorreu aumento quadrático com valores máximos de produção (58,29; 32,44 e 29,12 g/vaso) ocorrendo nas doses 439, 500 e 500 mg/dm^3 de P (respectivamente para produção de matéria seca da parte aérea, das folhas e do caule).

Esta leguminosa é classificada pela Comissão de Fertilidade do Solo de Goiás (1988) como de pouco exigência no tocante à fertilidade do solo. Embora esta leguminosa desenvolva-se bem em solos de baixa fertilidade, ela respondeu a adubação fosfatada, como foi observado com os aumentos na matéria seca em função da aplicação das doses de P.

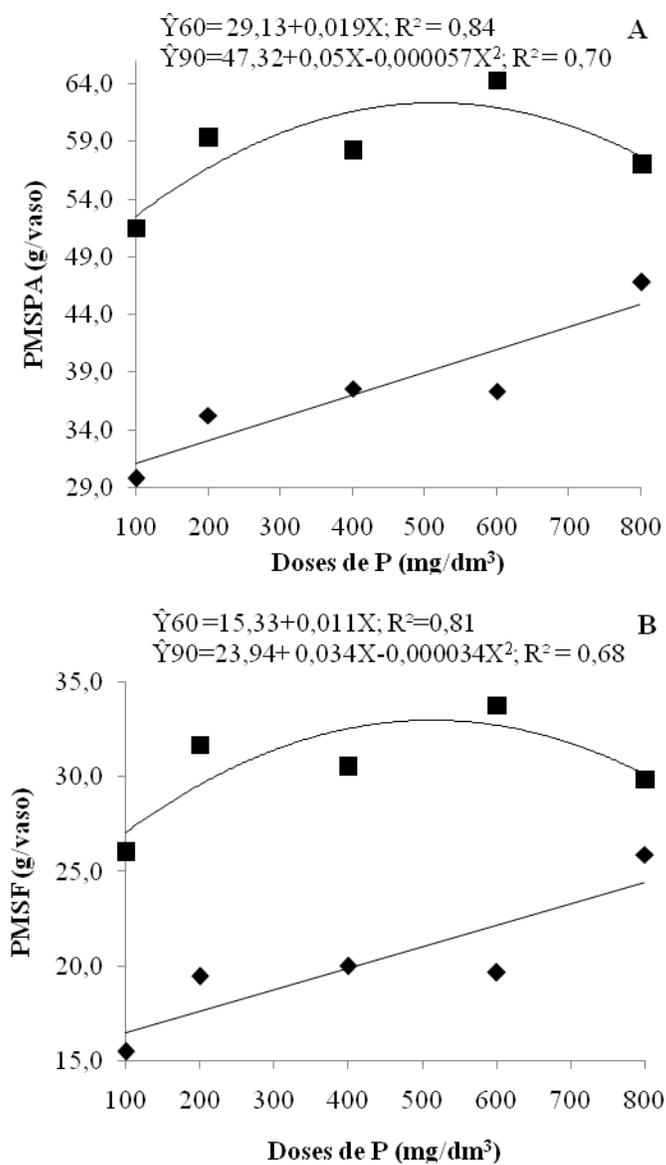


Gráfico 1 Produções de matéria seca da parte aérea (PMSPA) (A) e das folhas (PMSF) (B) de *C. mucunoides*, sob doses de P e idades de corte [60 (◆) e 90 (■) dias]

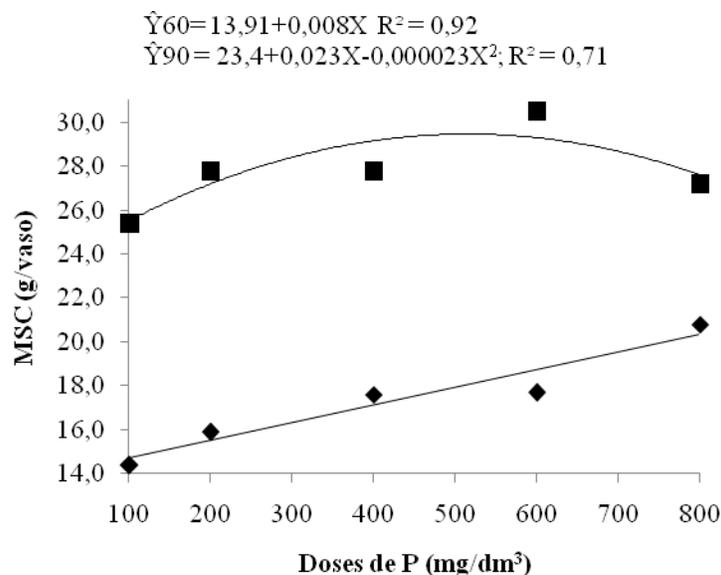


Gráfico 2 Matéria seca do caule (MSC) de *C. mucunoides*, sob doses de P e idades de corte [60 (◆) e 90 (■) dias]

Os teores de FDN e FDA aumentaram, ao mesmo tempo em que a DIVMS reduziu com a idade (Tabela 1).

O teor de PB das folhas apresentou resposta significativa à interação idade x dose ($P < 0,05$), reduzindo 0,008% na MS aos 60 dias; aos 90 dias não houve ajuste para a equação (Gráfico 1).

Os teores de FDN, FDA de *C. mucunoides* deste trabalho ficaram abaixo dos obtidos por Nascimento e Silva (2004), e os de PB ficaram acima. Estes autores verificaram valores de 65% de FDN e 49% de FDA e 9,9% de PB e também, abaixo dos valores da composição de nutrientes dessa leguminosa avaliada por Asongwed-Awa, Abakar e Vall (2003) que apresentaram valores de aproximadamente 60,4% FDN, 45,6% FDA.

Este leguminosa apresentou coeficientes elevados de DIVMS, dietas contendo *C. mucunoides* do experimento de Asongwed-Awa, Abakar e Vall (2003) que obtiveram valores de 60,2% de DIVMS.

O aumento nos teores de PB aos 90 dias coincide com a redução da digestibilidade e aumento nos teores de FDN e FDA. Essa associação sugere que parte da PB pode estar ligada à lignina, portanto, não disponível aos microrganismos do rúmen, afetando a DIVMS e o valor nutritivo da planta.

Tabela 1 Teores foliares de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) da leguminosa *C. mucunoides* sob doses (D) de P e idades (I) de corte

Idade	Dose de P (mg/dm ³)					Probabilidades		
	20	200	400	600	800	I	P	I x D
FDN (% na MS)								
60	33,9b	34,2b	36,4b	36,2b	35,7b	P<0,01	0,06	0,12
90	45,5a	45,2a	52,5a	50,7a	35,9a			
FDA (% na MS)								
60	20,4b	23,4b	26,6b	27,9b	26,7b	P<0,01	0,29	0,14
90	32,8a	29,2a	28,5a	34,0a	27,5a			
DIVMS (%)								
60	79,7a	76,6a	73,5a	72,0a	73,3a	P<0,01	0,41	0,14
90	67,2b	70,9b	71,5b	67,0b	72,5b			

Médias seguidas com mesma letra, na coluna, não diferem entre idades pelo teste F (P>0,05)

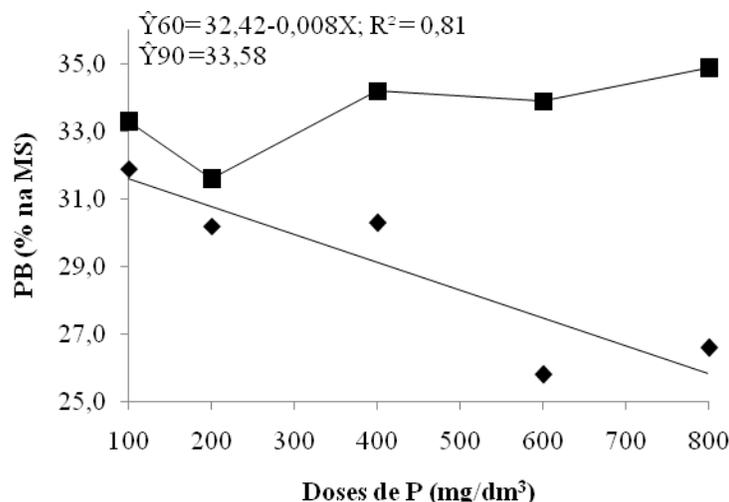


Gráfico 3 Teor de proteína bruta (PB) em folhas de *C. mucunoides*, sob doses de P e idades de corte [60 (♦) e 90 (■) dias]

A epiderme das folhas é unisseriada com células de contorno elíptico a circular nas duas faces foliares (Figuras 3 e 4). O mesofilo é do tipo dorsiventral, possuindo duas camadas de células paliçádicas (Figura 3), característico da tribo Phaseolae (LACKEY, 1978). O parênquima lacunoso é constituído de células de tamanhos e formatos variados e com espaços intercelulares bastante pronunciados. Este mesmo tipo de parênquima foi observado em *Pueraria lobata* e *P. phaseoloides* (PEREIRA NETO; GABRIELE; PINTO, 1997, 1999) e em plantas de soja (LEAL-COSTA et al., 2008). Foi observada, abaixo da camada mais interna do parênquima paliçádico, a presença de células com orientação horizontal, que segundo Fisher (1967), foi denominada mesofilo paranerval, devido sua relação com os tecidos vasculares. Esse tipo de tecido tem ampla distribuição entre as fabáceas (LACKEY, 1978) e foi observada em soja por Leal-Costa et al. (2008).

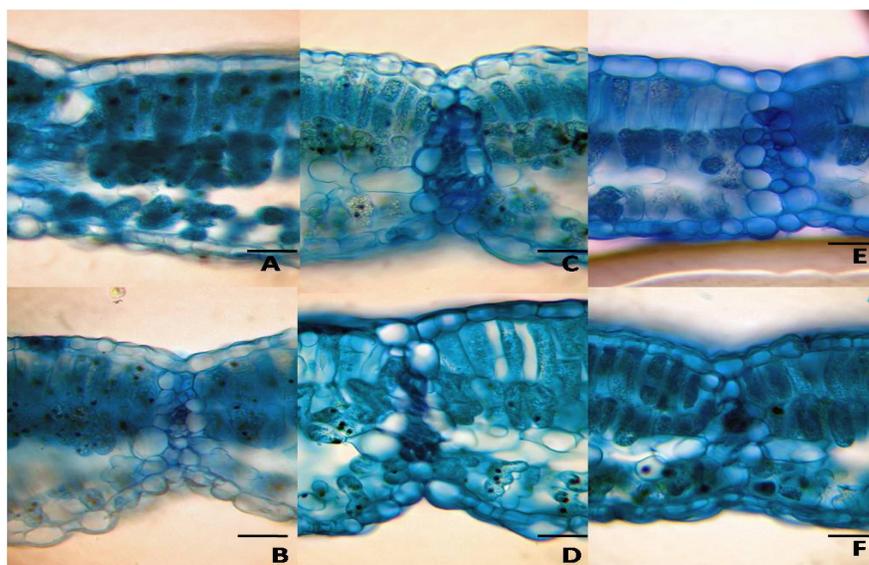


Figura 3 Fotomicrografias das secções transversais das folhas de *C. mucunoides*. A (60 dias, 100 mg/dm³ de P), B (90 dias, 100 mg/dm³ de P), C (60 dias, 400 mg/dm³ de P), D (90 dias, 400 mg/dm³ de P), E (60 dias, 800 mg/dm³ de P), F (90 dias, 800 mg/dm³ de P) (Barra de escala: 50µm)

A nervura central apresenta, em secção transversal, contorno biconvexo (Gráfico 3). O sistema vascular está constituído de um feixe sob a forma de um arco abaxial e um feixe menor voltado para a face adaxial, com floema externo ao xilema, padrão para família *Fabacea* (METCALFE; CHALCK, 1950). Também, observam-se fibras externas ao floema e colênquima angular. O parênquima paliçádico se encontra interrompido pelo tecido colenquimático. Circundando os feixes vasculares e as fibras a eles associadas, observamos parênquima fundamental. Essa mesma organização foi observada em plantas de soja por Dybing e Yarrow (1984) e Leal-Costa et al. (2008).

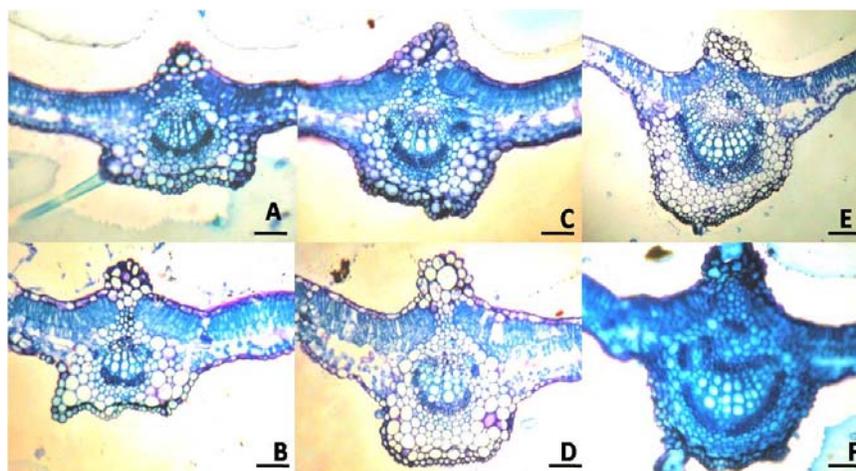


Figura 4 Fotomicrografias das secções transversais da nervura central das folhas de *C. mucunoides*. A (60 dias, 100 mg/dm³ de P), B (90 dias, 100 mg/dm³ de P), C(60 dias, 400 mg/dm³ de P), D (90 dias, 400 mg/dm³ de P), E (60 dias, 800 mg/dm³ de P), F (90 dias, 800 mg/dm³ de P) (Barra de escala: 100μm)

A espessura da epiderme abaxial da nervura central apresentou aumento quadrático com o aumento das doses de P, já na espessura do limbo este comportamento foi linear ($P < 0,05$). A maior espessura da epiderme abaxial da nervura central (25,67 μm) ocorreu na dose 518 mg/dm³ de P (Gráfico 4). O incremento na espessura do limbo foi de 0,28 μm por mg/dm³ de P.

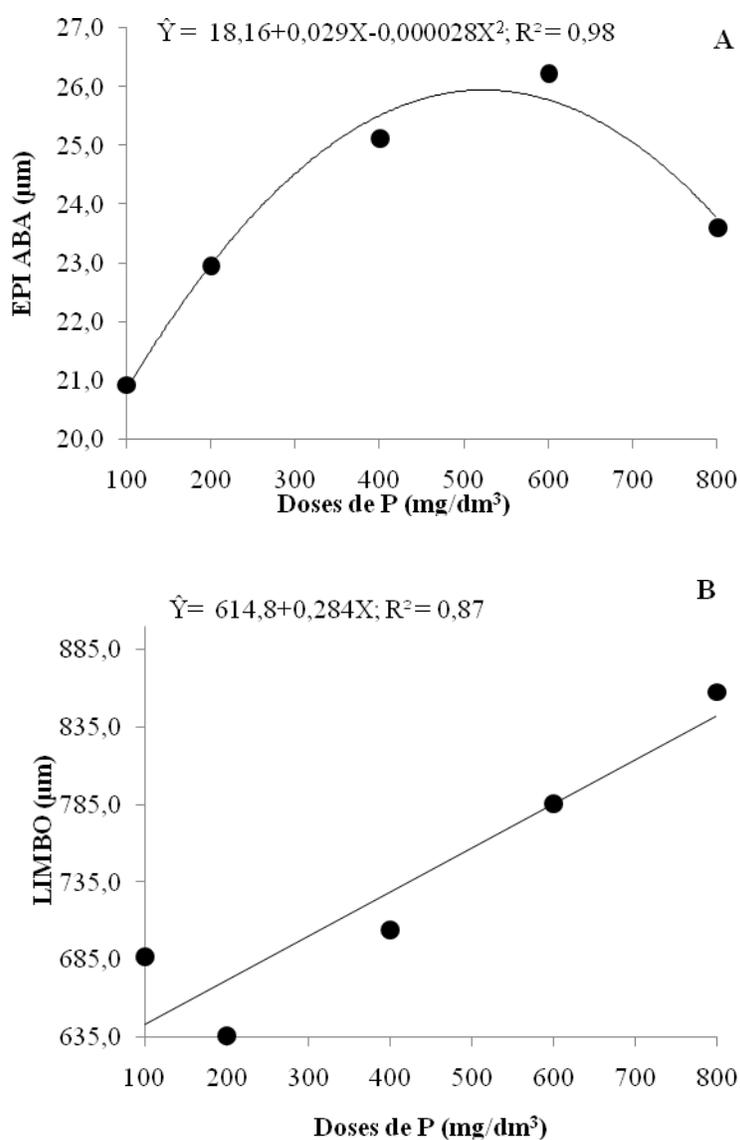


Gráfico 4 Espessuras da epiderme abaxial (EPIABA) (A) e do limbo (LIMBO) (B) na nervura central das folhas de *C. mucunoides*, sob doses de P e idades de corte, (● médias das idades)

A espessura do esclerênquima aumentou linearmente com as doses de P, com incremento de 0,011 μm por mg/dm^3 de P aplicado (Gráfico 5).

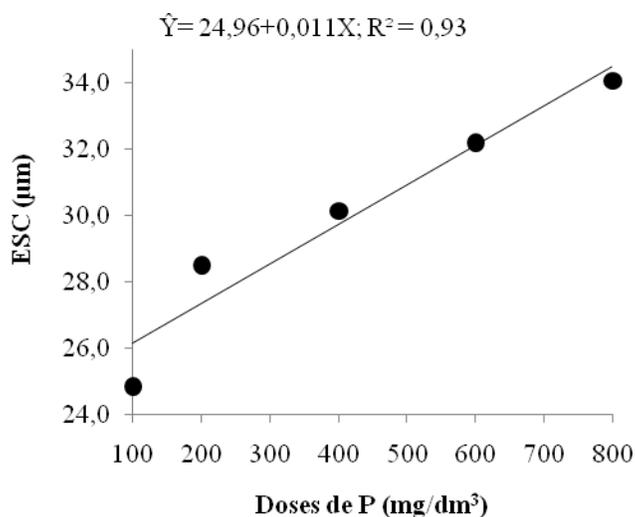


Gráfico 5 Espessura do esclerênquima (ESC) na nervura central das folhas de *P. phaseoloides*, sob doses de P e idades de corte, (● médias das idades)

A espessura da epiderme adaxial da nervura central apresentou maiores valores aos 60 dias e a espessura adaxial da nervura de menor calibre não respondeu aos tratamentos (Tabela 2). Foi observada maior emissão de brotações novas aos 90 dias, isso pode justificar os menores valores de espessura da epiderme adaxial nesta idade.

Tabela 2 Dimensões dos tecidos mensurados nas folhas da leguminosa *C. mucunoides* sob doses (D) de P e idades (I) de corte

Idade	Dose de P (mg/dm ³)					Probabilidades		
	20	200	400	600	800	I	D	I x D
EPIADANC (µm)								
60	23,0a	21,8a	20,6a	24,6a	20,9a	0,01	0,65	0,20
90	17,0b	17,7b	19,1b	19,6b	19,1b			
EPIADANMC (µm)								
60	14,4	13,5	14,6	14,3	15,0	0,85	0,18	0,17
90	14,4	13,3	14,5	16,2	13,0			

Médias seguidas com mesma letra não diferem entre idades pelo teste F ($P > 0,05$). EPIADANC (espessura da epiderme adaxial da nervura central), EPIADANMC (espessura da epiderme adaxial das nervuras de menor calibre)

O mesofilo aumentou quadraticamente ($P < 0,05$) com a aplicação das doses de P, com valor máximo (118,35 µm) ocorrendo na dose 440 mg/dm³ de P (Gráfico 6).

A espessura da epiderme abaxial das nervuras de menor calibre apresentou efeito significativo para a interação idade x dose ($P < 0,01$). Houve aumento linear da epiderme abaxial das nervuras de menor calibre aos 60 dias, com incremento de 0,0007 µm por mg/dm³ de P aplicado, aos 90 dias a resposta foi quadrática, com ponto de máxima (15,75 µm) ocorrendo na dose 500 mg/dm³ de P (Gráfico 6).

Esses valores de espessura de epiderme abaxial (13-16 µm) e de mesofilo (104,0-119,0 µm), comparados aos valores obtidos em soja (9 µm de epiderme abaxial e 160 µm de mesofilo) (LEAL-COSTA et al., 2008) demonstram a necessidade de melhoramento genético pra essas características, uma vez que a espessura da epiderme e do mesofilo são características que influenciam sobremaneira a digestibilidade dos alimentos, pois a epiderme é a primeira barreira a colonização e invasão dos microrganismos do rúmen (AKIN, 1989) e quanto mais espessa ela for, maior será a dificuldade; o mesofilo, ao contrário, deve ser mais espesso, pois é um tecido composto por células de

parede delgada, portanto, considerado um tecido rapidamente digerido (AKIN, 1989).

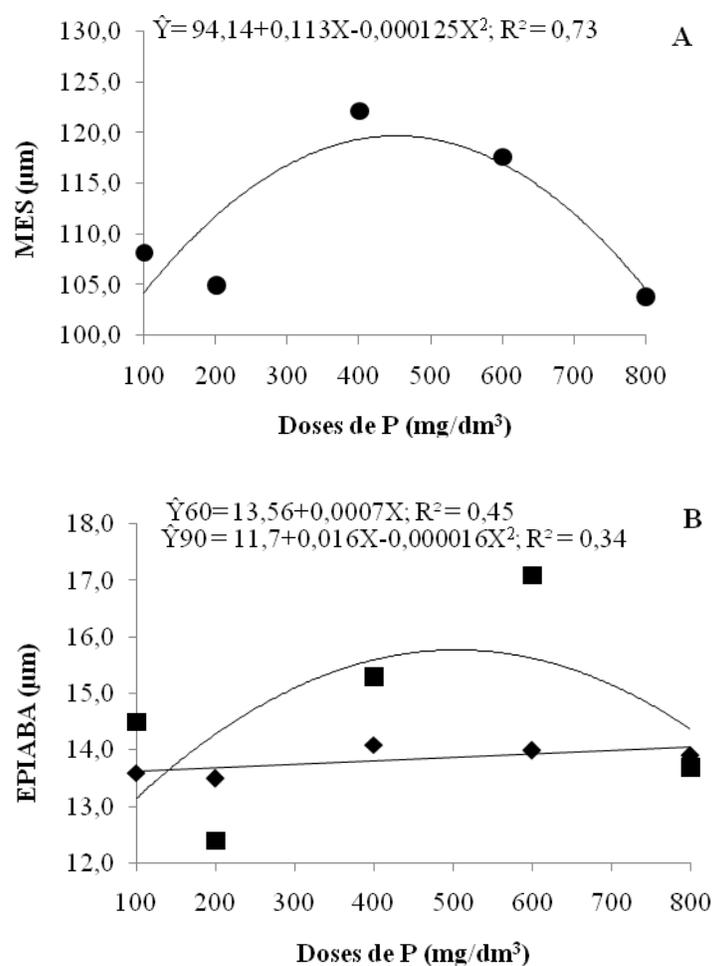


Gráfico 6 Espessuras do mesofilo (MES) (A) e da epiderme abaxial (EPIABA) (B) das nervuras de menor calibre das folhas de *C. mucunoides*, sob doses de P e idades de corte [60 (♦) e 90 (■) dias (● médias das idades)]

Os teores foliares de P, Ca e Mn reduziram com o aumento da idade de corte, por outro lado, os níveis de Cu aumentaram (Tabela 3). Os valores encontrados neste trabalho corroboram com os obtidos por Asongwed-Awa, Abakar e Vall (2003), cujos teores dos macronutrientes P, Mg, Ca e K foram: 1,0; 2,0; 12; 21 g/kg e os teores de micronutrientes Mn, Cu, Zn foram: 114; 10 e 108 mg/kg.

É provável que os teores de P, Mg e Ca não tenham tido efeito para as doses de P por que a redução nos teores de K aos 60 dias tenha limitado a absorção dos outros nutrientes, conforme a Lei dos teores mínimos de Liebig.

Houve resposta significativa de K à interação idade x dose ($P < 0,05$). O teor de K reduziu 0,0032 g/kg por mg/dm^3 de P aplicado, aos 60 dias, e aumentou aos 90 dias, com incremento de 0,001 g/kg por mg/dm^3 de P (Gráfico 7). Esse fato pode ter ocorrido devido a diminuição na taxa de desenvolvimento da planta aos 90 dias e com isso a planta extraiu menos K do solo.

Tabela 3 Teores foliares de P, K, Ca, Mg, Cu, Mn, Zn da leguminosa *C. mucunoides* sob doses de P e idades de corte

Idade	Dose de P (mg/dm ³)					Probabilidades (P)		
	20	200	400	600	800	I	D	I x D
P (g/kg)								
60	2,95b	2,82b	3,00b	2,52b	2,60b	P<0,01	0,75	0,27
90	3,05a	3,27a	3,50a	3,52a	3,42a			
Ca (g/kg)								
60	12,3a	13,6a	12,4a	11,5a	10,2a	P<0,01	0,08	0,22
90	7,9b	7,6b	7,5b	6,9b	7,4b			
Mg (g/kg)								
60	1,92	2,00	2,02	1,75	1,77	0,50	0,35	0,19
90	1,87	1,77	1,90	1,85	1,90			
Cu (mg/kg)								
60	9,85b	7,15b	8,60b	6,10b	4,90b	P<0,01	0,10	0,75
90	17,0a	10,37a	10,42a	9,00a	10,90a			
Mn (mg/kg)								
60	87,2a	87,3a	82,3a	74,9a	75,3a	P<0,01	0,18	0,24
90	77,0b	67,2b	65,9b	62,4b	70,6b			
Zn (mg/kg)								
60	45,5	42,5	51,8	39,9	32,0	0,98	0,48	0,26
90	43,8	45,4	38,0	43,7	41,1			

Médias seguidas com mesma letra, na coluna, não diferem entre idades pelo teste F (P>0,05)

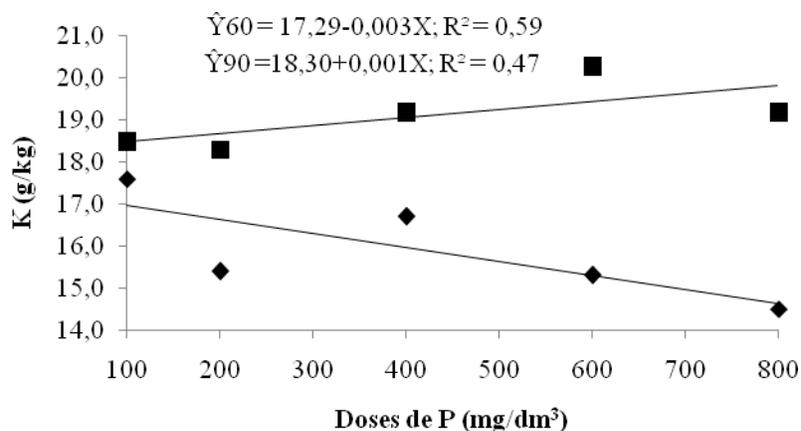


Gráfico 7 Teor de K em folhas de *C. mucunoides*, sob doses de P e idades de corte [60 (◆) e 90 (■) dias]

Apesar das variáveis bromatológicas e anatômicas das folhas terem apresentado resposta significativa aos fatores avaliados, observou-se correlação significativa positiva somente entre FDN e FDA e a espessura da epiderme abaxial da nervura de menor calibre (Tabela 5).

Pode-se inferir que a elevada espessura da epiderme abaxial obtida nas folhas de *C. mucunoides* tenha sido acompanhada de um processo de lignificação e por isso tenha apresentado correlação positiva com FDN e FDA.

Tabela 5 Coeficientes de correlação de Pearson dos teores de fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN), digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) e proteína bruta (PB) com os tecidos mensurados na folha da leguminosa *C. mucunoides* sob doses de P e idades de corte

Tecidos	PB	FDN	FDA	DIVMS
EPABNMC	0,09	0,38***	0,29**	-0,28

EPABNMC (epiderme abaxial da nervura de menor calibre). **P<0,05; ***P<0,01.

Os teores PB no caule foram maiores aos 90 dias, com redução no teor de FDN e DIVMS nesta idade (Tabela 6).

O teor de FDA no caule apresentou resposta significativa à interação idade x dose (P<0,05). As respostas apresentadas foram contraditórias, pois, ocorreu aumento quadrático aos 60 dias, com valor máximo (42,89%MS) na dose 500 mg/dm³ de P e redução aos 90 dias, com valor mínimo (44,7%MS) ocorrendo, também, na dose 500 mg/dm³ de P (Gráfico 8).

É possível que a redução do teor de FDA e dos coeficientes de DIVMS no caule foi ocasionada pelo processo de lignificação que se torna muito maior com a maturidade das plantas.

Apesar do teor de PB ter aumentado não houve aumento na DIVMS, podendo-se pressupor que parte dessa proteína pode estar ligada a fração fibra do caule.

Tabela 6 Teores caulinares de fibra em detergente neutro, proteína bruta e digestibilidade *in vitro* da matéria seca da leguminosa *C. mucunoides* sob doses de P e idades de corte

Idade	Dose de P (mg/dm ³)					Probabilidades		
	20	200	400	600	800	I	D	I x D
FDN (% na MS)								
60	65,7b	62,5b	60,3b	63,6b	60,8b	0,02	0,52	0,82
90	66,6a	66,0a	63,6a	67,0a	67,8a			
PB (% na MS)								
60	15,9b	15,3b	16,3b	16,0b	14,5b	0,01	0,53	0,83
90	17,9a	18,3a	16,9a	17,7a	16,3a			
DIVMS (%)								
60	57,5a	58,5a	59,0a	60,5a	55,3a	P<0,01	0,53	0,99
90	50,2b	50,3b	53,2b	52,7b	45,8b			

Médias seguidas com mesma letra, na coluna, não diferem entre idades pelo teste F (P>0,05).

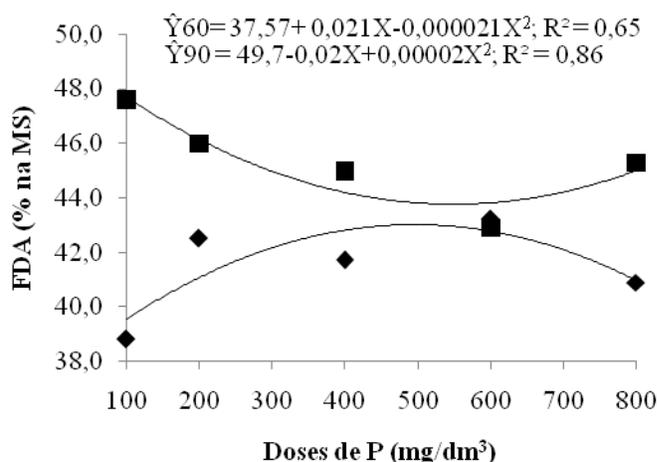


Gráfico 8 Teor de fibra em detergente ácido (FDA) no caule de *C. mucunoides* sob doses de P e idades de corte [60 (◆) e 90 (■) dias]

Observou-se nos cortes transversais de caule (Figura 5) que o colênquima é do tipo angular, cujos espessamentos ocorrem nos ângulos das células (CASTRO; PEREIRA; PAIVA, 2009), e há a formação de um anel esclerenquimático abaixo da epiderme e acima dos feixes vasculares.

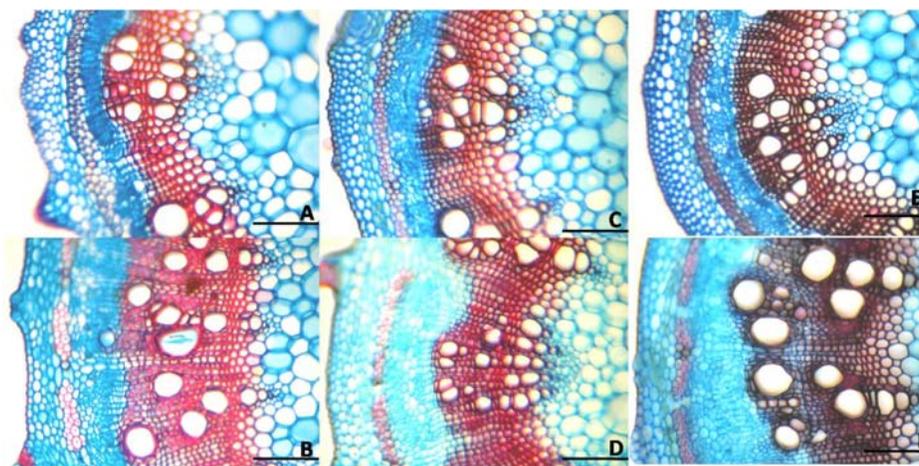


Figura 5 Fotomicrografias das secções transversais do caule de *C. mucunoides*. A (60 dias, 100 mg/dm³ de P), B (90 dias, 100 mg/dm³ de P), C (60 dias, 400 mg/dm³ de P), D (90 dias, 400 mg/dm³ de P), E (60 dias, 800 mg/dm³ de P), F (90 dias, 800 mg/dm³ de P) (Barra de escala: 50µm)

Houve uma tendência de redução da distância entre feixes no caule com o aumento da idade (Tabela 7).

Tabela 7 Dimensões dos tecidos mensurados no caule da leguminosa *C. mucunoides* sob doses de P e idades de corte

Idade	Dose de P (mg/dm ³)					Probabilidades		
	20	200	400	600	800	I	D	I x D
Diâmetro (µm)								
60	2355,6	1786,0	1962,0	1839,5	1960,5	0,59	0,33	0,07
90	1717,0	1804,8	1792,4	1991,0	2304,6			
DFV (µm)								
60	167,7	163,0	180,3	194,1	160,3	0,09	0,96	0,60
90	154,3	165,6	154,7	128,9	144,4			

Médias seguidas com mesma letra não diferem entre idades pelo teste F ($P > 0,05$). DFV (Distância entre feixes vasculares)

As espessuras do esclerênquima e da epiderme do caule responderam significativamente às doses de P ($P < 0,01$) e a distância entre epiderme e esclerênquima à interação idade x dose ($P < 0,05$).

Ocorreu aumento linear da espessura do esclerênquima, com incremento de $0,007\mu\text{m}$ por mg/dm^3 de P aplicado. A espessura da epiderme apresentou aumento quadrático, com maior espessura ($14,86\ \mu\text{m}$) obtida com a dose $708\ \text{mg}/\text{dm}^3$ de P (Gráfico 9). Esse aumento na espessura da epiderme é indesejável, pois essa é a primeira barreira a colonização dos microrganismos ruminais, portanto, quanto maior a espessura pior será a digestibilidade do tecido.

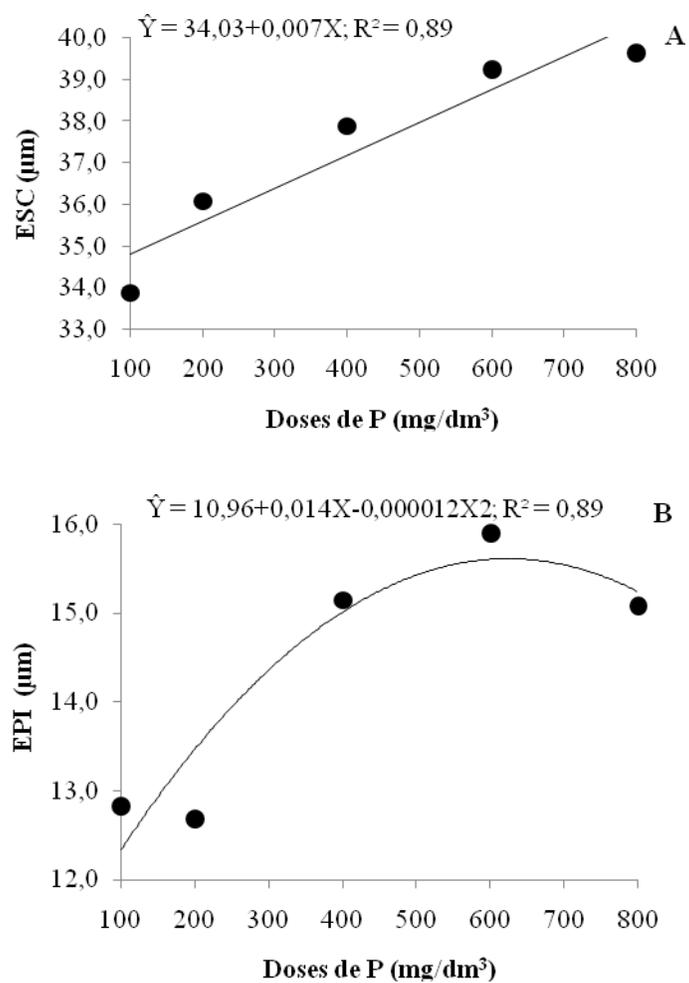


Gráfico 9 Espessuras do esclerênquima (ESC) (A) e da epiderme (EPI) (B) do caule de *C. mucunoides*, sob doses de P e idades de corte, (● médias das idades)

A equação da distância entre epiderme e esclerênquima aos 60 dias não apresentou ajuste. Aos 90 dias, por outro lado, observou-se aumento quadrático na distância, com maior valor (67,58 μm), ocorrendo com a dose 458 mg/dm^3 de P (Gráfico 10).

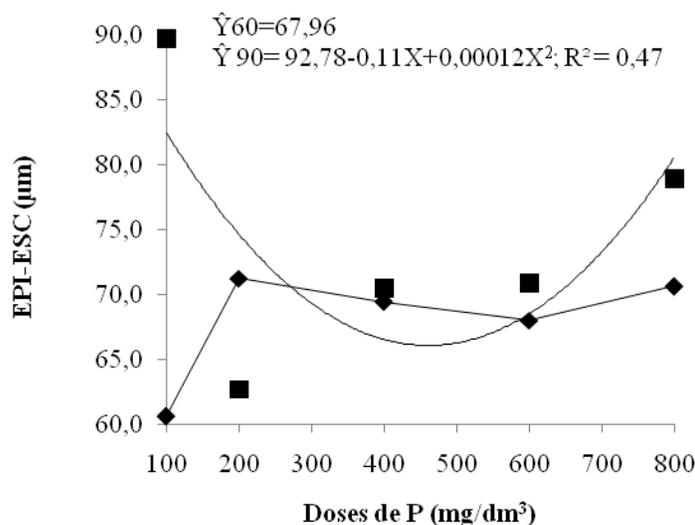


Gráfico 10 Distância entre epiderme e esclerênquima (EPI-ESC) no caule de *C. mucunoides*, sob doses de P e idades de corte [60 (♦) e 90 (■) dias]

Os teores caulinares de P, Ca, Mg, Mn e Zn não responderam significativamente a nenhum dos fatores avaliados (Tabela 8). Os níveis de K e Cu apresentaram resposta significativa às doses de P ($P < 0,01$ e $P < 0,05$, respectivamente). Os teores de K reduziram 0,005 g/kg por mg/dm^3 de P aplicado e os de Cu, 0,004 mg/kg por mg/dm^3 de P (Gráfico 11). É provável que a redução nos teores de K e Cu tenha limitado a absorção dos outros nutrientes, sobretudo P, Ca e Mg.

Observaram-se maiores teores de Cu aos 90 dias (Tabela 8). O que pode significar redução no pH do solo.

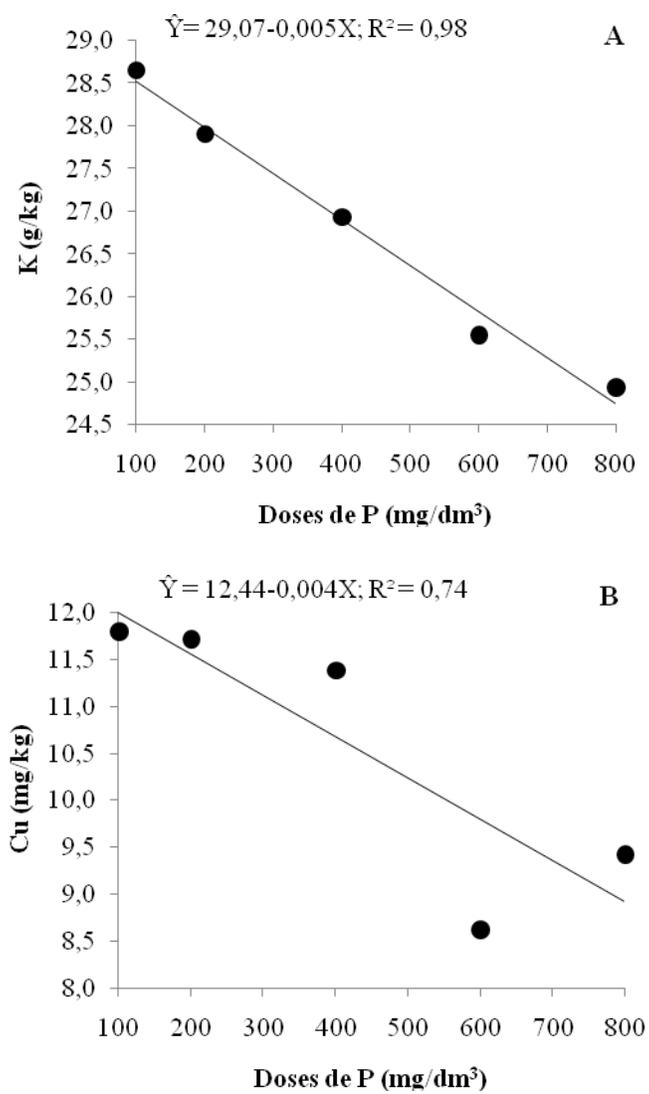


Gráfico 11 Teores de K (A) e Cu (B) de caule de *C. mucunoides*, sob doses de P e idades de corte

Tabela 8 Teores caulinares de P, K, Ca, Mg, Cu, Mn, Zn da leguminosa *C. mucunoides* sob doses de P e idades de corte

Idade	Dose de P (mg/dm ³)					Probabilidades (P)		
	20	200	400	600	800	I	D	I x D
P (g/kg)								
60	2,42	2,35	2,57	2,25	2,42	0,06	0,08	0,11
90	1,82	1,95	2,42	2,42	2,45			
K (g/kg)								
60	28,9	28,5	26,5	24,6	23,8	0,15	P<0,01	0,14
90	28,4	27,4	27,4	26,5	26,1			
Ca (g/kg)								
60	7,62	8,77	7,55	7,00	6,95	0,67	0,24	0,22
90	4,45	4,90	14,52	5,27	5,32			
Mg (g/kg)								
60	1,52	1,70	1,55	1,25	1,47	0,12	0,12	0,20
90	0,95	0,87	2,22	0,80	1,00			
Cu (mg/kg)								
60	11,87b	11,70b	11,12b	7,17b	7,17b	0,04	0,04	0,25
90	11,75a	11,75a	11,67a	10,07a	11,7a			
Mn (mg/kg)								
60	37,1	192,4	36,6	28,8	33,6	0,41	0,37	0,40
90	42,6	41,7	43,3	37,4	35,2			
Zn (mg/kg)								
60	58,2	157,7	54,9	49,3	45,2	0,59	0,46	0,41
90	62,7	58,6	68,7	61,6	55,6			

Médias seguidas com mesma letra, na coluna, não diferem entre idades pelo teste F (P>0,05)

Houve correlação significativa somente entre FDA e a distância entre epiderme e esclerênquima no caule (Tabela 9).

Pode-ser inferir que ocorreu um aumento no espessamento da parede das células de parênquima localizadas entre a epiderme e o esclerênquima, por isso justifica-se a correlação positiva entre a distância epiderme e esclerênquima e a FDA.

Tabela 9 Coeficientes de correlação de Pearson dos teores de fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN), digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e proteína bruta (PB) com os tecidos mensurados no caule da leguminosa *C. mucunoides* sob doses de P e idades de corte

Tecidos	PB	FDN	FDA	DIVMS
EPI-ESC	0,15	0,24	0,38***	-0,25

EPI-ESC (Distância entre epiderme e esclerênquima). ***P<0,01

4 CONCLUSÕES

A aplicação de fósforo e a idade proporcionam redução no valor nutritivo em virtude da maior proporção de esclerênquima e do aumento da espessura da epiderme.

Redução nos teores de K e Cu, com o aumento das doses de P, restringem a absorção dos demais nutrientes.

Os teores de fibra correlacionam-se positivamente com a espessura da epiderme e com a distância entre epiderme e esclerênquima, o que indica que a anatomia pode ser utilizada como ferramenta do melhoramento genético de leguminosas tropicais.

REFERÊNCIAS

- AKIN, D. E. Histological and physical factors affecting digestibility of forage. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, n. 1, p. 17-25, June 1989.
- ASONGWED-AWA, A.; ABAKAR, O.; VALL, E. Intake and digestibility of calopogonium mucunoides-based diets fed to draft donkeys during the dry season. **Revue D'Elevage et de Medecine Veterinaire des Pays Tropicaux**, Yale, v. 56, n. 3/4, p. 205-210, 2003.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. Arlington, 1995. v. 1, 684 p.
- _____. _____. Washington, 1980. 1015 p.
- CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009. 234 p.
- COMISSÃO DE FERTILIDADE DE SOLO DE GOIÁS. **Recomendações de corretivos e fertilizantes de Goiás: 5ª aproximação**. Goiânia, 1988. 101 p.
- CORRÊA, L. A.; HAAG, H. P. Níveis críticos de fósforo para o estabelecimento de gramíneas forrageiras em latossolo vermelho-amarelo, álico: I., ensaio em casa de vegetação. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 50, n. 1, p. 99-108, 2003.
- DYBING, C. D.; YARROW, G. L. Mophactin effects on soybean leaf anatomy and chlorophyll content. **Journal of Plant Regulation**, New York, v. 3, n. 1/4, p. 9-21, Jan. 1984.
- FISHER, D. B. An unusual layer of cells in the mesophyll of soybean leaf. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 128, p. 215-218, 1967.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 300 p.
- KRAUS, J. E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: Edur, 1997. 221 p.
- LACKEY, J. A. Leaflet anatomy of Phaseolae (Leguminosae: Papilionoideae) and its relation to taxonomy. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 139, p. 436-446, 1978.

LEAL-COSTA, M. V. et al. Anatomia foliar de plantas transgênicas e não transgênicas de *Glycine Max* (L) Merrill (Fabaceae). **Revista Biociências**, Taubaté, v. 14, n. 1, p. 23-31, set. 2008.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: POTAFÓS, 1997. 319 p.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses**. Oxford: Clarendon, 1950. v. 2, 805 p.

NASCIMENTO, J. T.; SILVA, I. F. Avaliação quantitativa da fitomassa de leguminosas para uso como cobertura do solo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 947-949, maio/jun. 2004.

PEREIRA NETO, A. B.; GABRIELE, A. C.; PINTO, H. S. Aspects of leaf anatomy of kudzu (*Pueraria lobata*, Leguminosae-Faboideae) related to water and energy balance. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 8, p. 1361-1365, ago. 1999.

_____. Aspects of leaf anatomy of tropical kudzu related to water and energy balance. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 7, p. 689-693, jul. 1997.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS/STAT user's guide**. Version 6.11. Cary, 1996. v. 2, 842 p.

SEIFFERT, N. F. **Leguminosas para pastagens no Brasil Central**. Brasília: EMBRAPA-DID, 1982. 131 p. (Documentos, 7).

SOEST, P. J. van. Use of detergents in the analysis of fibrous foods: II., a rapid method for the determination of fiber and lignin. **Journal of the Association of the Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 46, p. 829-835, 1963.

TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**, Oxford, v. 18, p. 104-111, 1963.

VALENTIM, J. F.; CARNEIRO, J. da C. *Pueraria phaseoloides* e *Calopogonium mucunoides*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 17., 2000, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2000. p. 359-390.

Artigo redigido conforme norma da Revista Brasileira de Ciência do Solo