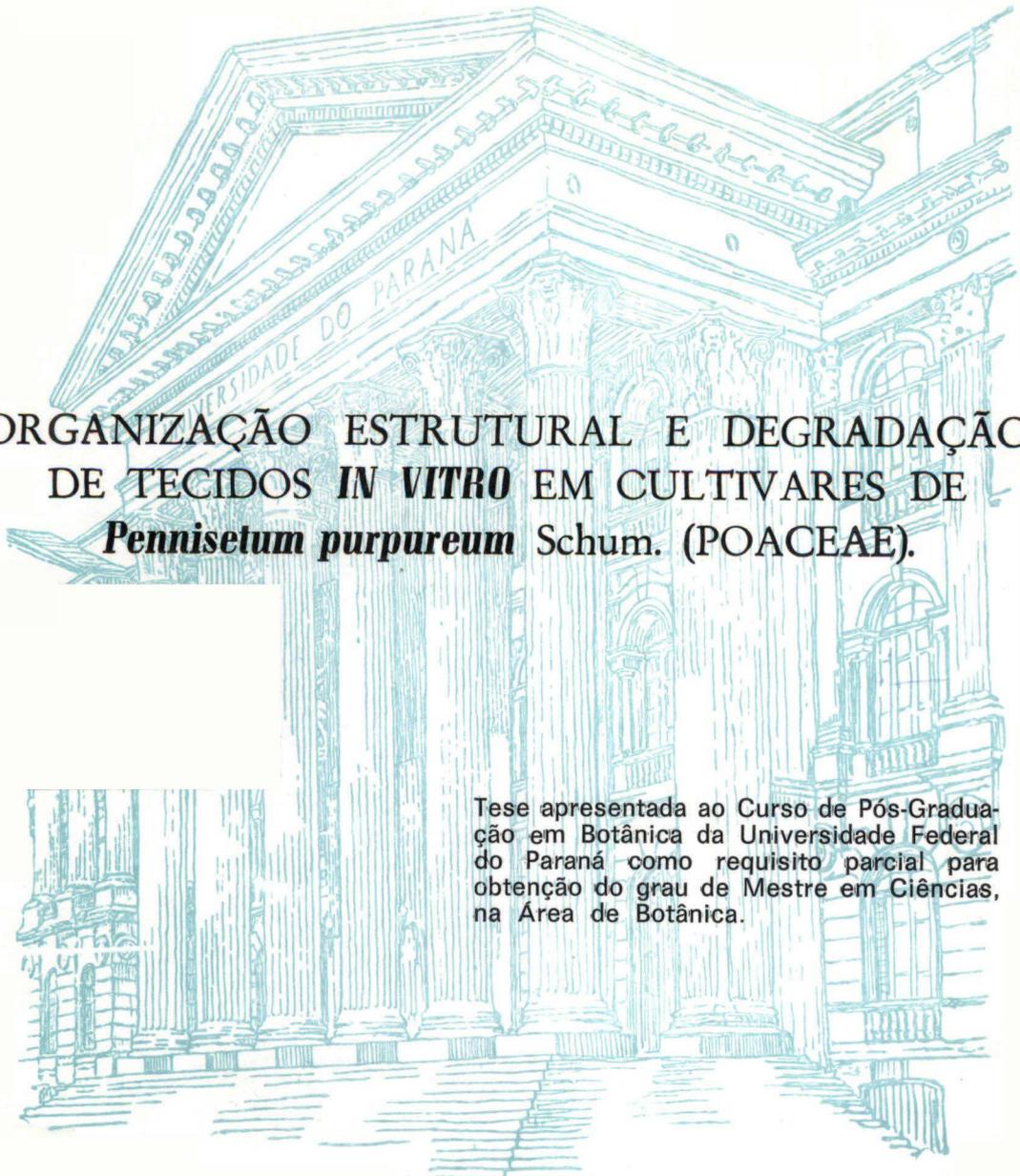


CLÁUDIO JOSÉ FREIXEIRO ALVES DE BRITO



ORGANIZAÇÃO ESTRUTURAL E DEGRADAÇÃO  
DE TECIDOS *IN VITRO* EM CULTIVARES DE  
*Pennisetum purpureum* Schum. (POACEAE).

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Botânica da Universidade Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, na Área de Botânica.

CURITIBA

1997

CLÁUDIO JOSÉ FREIXEIRO ALVES DE BRITO

ORGANIZAÇÃO ESTRUTURAL E DEGRADAÇÃO  
DE TECIDOS *IN VITRO* EM CULTIVARES DE  
*Pennisetum purpureum* Schum. (POACEAE).

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Botânica da Universidade Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, na Área de Botânica.

CURITIBA

1997



Ministério da Educação e do Desporto  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**  
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

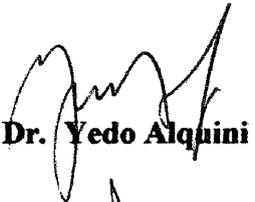
**“ ORGANIZAÇÃO ESTRUTURAL E DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* DE CULTIVARES DE *Pennisetum purpureum* Schum. (Poaceae)”.**

por

**CLÁUDIO JOSÉ FREIXEIRO ALVES DE BRITO**

**Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de mestre no Curso de Pós-Graduação em Botânica, pela Comissão formada pelos Professores:**

**Orientador:**

  
**Prof. Dr. Yedo Alquini (Orientador)**

  
**Prof. Dr. Roberto Antonio Rodella (Titular)**

  
**Dr. Francisco Deschamps (Titular)**

**Curitiba, 21 de março 1997**

**Orientador**

Prof. Dr. Yedo Alquini - UFPR

**Co-Orientador**

Prof. Dr. Roberto A. Rodella - UNESP/Botucatu

*É melhor tentar e falhar, do que preocupar-se e ver a vida passar, é melhor tentar, ainda em vão, do que sentar-se nada fazendo. Prefiro na chuva caminhar, do que em casa me esconder. Prefiro ser feliz, embora louco, do que em conformidade viver.*  
*Martin Luther King*

*À Prof. Desanka Martinic Sá (1944-1997), pela iniciação nos caminhos da Anatomia Vegetal, por todos os seus ensinamentos, estímulo e inesquecível amizade.*

## AGRADECIMENTOS

À **Universidade Federal do Paraná**, pela oportunidade que permitiu meu aperfeiçoamento pessoal e profissional, tanto na graduação em Agronomia quanto na Pós-Graduação em Botânica, meu eterno reconhecimento.

À **Empresa de Pesquisa e Difusão Agropecuária do Estado de Santa Catarina (EPAGRI)**, Estação Experimental de Itajaí, pela cessão do material vegetal e animal, utilização de laboratórios e demais auxílios essenciais para o desenvolvimento desta Tese.

Ao **Centro de Informática na Agricultura (CINAG)**, da Faculdade de Ciências Agrônômica da UNESP-Botucatu-SP, pelo fornecimento do Sistema de Planimetria e configuração da mesa digitalizadora.

Ao **Prof. Dr. Yedo Alquini (UFPR)**, pela dedicação na orientação desta Tese, amizade e ensinamentos, bem como por sua dedicação e auxílio como coordenador do Curso de Pós-Graduação em Botânica da UFPR.

Ao **Prof. Dr. Roberto Antônio Rodella (UNESP-Botucatu)**, pela dedicação na co-orientação, suporte na análise anatômica quantitativa, disponibilidade e amizade.

Ao **Pesquisador Dr. Francisco Deschamps (EPAGRI-Itajaí)**, pela sugestão deste trabalho, imprescindível auxílio em todas as etapas, incansável dedicação e, sobretudo, grande amizade.

À secretária do Curso de Pós-Graduação em Botânica, **Elizabeth França**, pela dedicação e simpatia com a qual sempre nos atendeu, além da enorme amizade.

À Secretaria do Departamento de Botânica da UFPR, em especial **Rosicler Angelote, Moacir Ribeiro e Narciso de Castro**, pela atenção e amizade.

Ao **Centro de Microscopia Eletrônica** da UFPR, quando na realização da Microscopia Eletrônica de Varredura.

Ao **Laboratório de Ficologia** do Depto. de Botânica da UFPR, na pessoa da **Profª. Dra. Thelma Veiga Ludwig**, pela utilização do fotomicroscópio e disponibilidade.

À todas as funcionárias das **Bibliotecas do Setor de Ciências Biológicas e do Setor de Ciências Agrárias** da UFPR, pelo auxílio no levantamento de material bibliográfico e especial atenção.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação em Botânica, **Alexandre Uhlmann, Hélio Oliveira Jr., Leila Maranhão, Lenir Lima, Lúcia Grupo, Regina Souza e Ubirazilda Resende**, pela amizade.

A todos os Professores do Departamento de Botânica da UFPR pelos ensinamentos e amizade, em especial aos **Professores Adriano Bidá, Armando Carlos Cervi, Cleusa Bona, Ita Moema e Hermes Moreira Filho, Mousinho T. Coelho, Olavo Araújo Guimarães e William A. Rodrigues**.

À **Profª. Maria Regina Boeger** (Depto. Botânica - UFPR) e ao **Prof. Dr. Walter Boeger** (Depto. Zoologia- UFPR) por todo auxílio e amizade.

Ao **Prof. Dr. Adauto B. de Pereira Netto** (UFPR) pelas sugestões e correções no *Abstract*.

A meus pais **Letícia e Cláudio**, pelo constante estímulo e compreensão em todos os momentos da minha vida, e, por quantas vezes, suporte financeiro.

À minha irmã **Margarida** e meu cunhado **Francisco**, pelo apoio, compreensão e incentivo que sempre me fortaleceram.

À companheira de todas as horas, **Bióloga M.Sc. Joalice de Oliveira Mendonça** por todo auxílio, incentivo, paciência.

À **CAPES** pela concessão da bolsa de estudos e demais recursos fornecidos.

## SUMÁRIO

|   |     |
|---|-----|
| LISTA DE TABELAS.....   | ix  |
| LISTA DE FIGURAS.....   | x   |
| RESUMO.....   | xv  |
| ABSTRACT.....   | xvi |
| 1. INTRODUÇÃO.....  | 01  |
| 1.1 A família Poaceae e a espécie <i>Pennisetum purpureum</i> Schumacher..... | 01  |
| 1.2 Os ruminantes.....  | 04  |
| 1.3 Microbiologia do rúmen e digestibilidade <i>in vitro</i> .....            | 05  |
| 1.4 Objetivos.....  | 07  |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA.....   | 08  |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS.....  | 21  |
| 3.1- Material botânico.....   | 21  |
| 3.2- Análise botânica estrutural e anatomia quantitativa.....                 | 22  |
| 3.3- Degradação de tecidos <i>in vitro</i> .....                              | 25  |
| 3.4- Análise estatística.....   | 26  |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....  | 30  |
| 4.1- Características Morfológicas.....  | 30  |
| 4.2- Características Anatômicas.....  | 33  |
| 4.2.1-Bainha Foliar.....  | 33  |

|  |     |
|--|-----|
| 4.2.2-Região do Limbo Foliar.....                      | 37  |
| 4.2.3-Região da Quilha Foliar.....                     | 42  |
| 4.2.4-Caule.....                                       | 43  |
| 4.3- Anatomia Quantitativa.....                        | 51  |
| 4.3.1-Anatomia quantitativa da bainha foliar.....      | 51  |
| 4.3.2-Anatomia quantitativa do limbo foliar.....       | 55  |
| 4.3.3-Anatomia quantitativa da quilha foliar.....      | 59  |
| 4.3.4-Anatomia quantitativa do caule.....              | 62  |
| 4.4- Degradação <i>in vitro</i> de tecidos.....        | 66  |
| 4.4.1-Degradação <i>in vitro</i> da bainha foliar..... | 67  |
| 4.4.2-Degradação <i>in vitro</i> do limbo foliar.....  | 70  |
| 4.4.3-Degradação <i>in vitro</i> da quilha foliar..... | 72  |
| 4.4.4-Degradação <i>in vitro</i> do caule.....         | 74  |
| 5- CONCLUSÕES.....                                     | 103 |
| ANEXO 1- DADOS METEREOLÓGICOS E DO SOLO.....           | 104 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....                        | 109 |

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| TABELA 1- Variação da altura da planta, comprimento da lâmina e da bainha foliar, e do comprimento do caule (entrenós), em relação à idade da planta. (em cm).....                             | 31 |
| TABELA 2- Porcentagem média e desvio padrão da soma dos diferentes tecidos presentes em bainhas foliares de cultivares de <i>P. purpureum</i> em três diferentes épocas de coleta. ....        | 51 |
| TABELA 3- Porcentagem média e desvio padrão da soma dos diferentes tecidos presentes no limbo foliar de cultivares de <i>P. purpureum</i> em três diferentes épocas de coleta. ....            | 56 |
| TABELA 4- Porcentagem média e desvio padrão da soma dos diferentes tecidos presentes na região da quilha foliar de cultivares de <i>P. purpureum</i> em três diferentes épocas de coleta. .... | 60 |
| TABELA 5- Porcentagem média e desvio padrão da soma dos diferentes tecidos presentes em caules de cultivares de <i>P. purpureum</i> em três diferentes épocas de coleta.....                   | 63 |

## LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1** A- Piquete de *P. purpureum* utilizado para pastoreio direto na EPAGRI; B- Parcela experimental do cv. Roxo na EPAGRI; C- Detalhes dos cultivares Empasc 309 Areia (esq.), Roxo (centro) e Empasc 309 Testa (dir.); D- Bovino fistulado utilizado para coleta do líquido ruminal..... 27
- Fig. 2** Desenhos esquemáticos de *P. purpureum*. A- Limbo foliar; B- Bainha foliar na primeira coleta, sem a presença de aerênquima; C- Bainha foliar da segunda coleta, com o aerênquima já formado..... 28
- Fig. 3** Desenhos esquemáticos de *Pennisetum purpureum*. A- Região da quilha foliar; B- Caule..... 29
- Fig. 4-** A- Face adaxial da bainha foliar de *P. purpureum*; B- Detalhe da figura anterior, destacando um estômato; C- Face abaxial da bainha foliar; D- Detalhe da fig. anterior, detalhando os tricomas em forma de gancho ("hooks"); E- Face abaxial, destacando-se céls. silicosas sobre a nervura; F- Face abaxial da bainha foliar. (Todas em vista frontal e em Microscopia Eletrônica de Varredura = MEV)..... 46
- Fig. 5-** A- Vista frontal do limbo foliar, destacando céls. longas com paredes anticlinais sinuosas, céls. silicosas e céls. suberosas; B- Secção transversal da bainha foliar, destacando céls. epidérmicas da face adaxial; C- Idem a fig. anterior, porém da face abaxial; D- Secção transversal da bainha foliar; E- Secção transversal do limbo foliar. (Todas as figuras em Microscopia fotônica = MF)..... 47
- Fig. 6-** Secções transversais de *P. purpureum*. A- Limbo foliar, feixe de grande porte; B- Idem, feixe de médio porte; C- Idem, feixe de pequeno porte; D- Secção transversal da quilha. (MF)..... 48
- Fig. 7-** A- Face adaxial do limbo foliar; B- Idem a fig. anterior, destacando tricomas pontiagudos pareados sobre a nervura e tricomas em forma de gancho na região intercostal; C- Face abaxial do limbo; D- Idem a fig. anterior, destacando tricomas bicelulares unisseriados e em forma de gancho. Todas as figuras em vista frontal. (MEV)..... 49
- Fig. 8-** Secções transversais de *P. purpureum*. A- Região da quilha foliar; B e C- Caule. (MF)..... 50

|  |    |
|--|----|
| <b>Fig. 9-</b> Porcentagem média dos tecidos presentes em bainhas foliares de três cultivares de <i>P. purpureum</i> em três épocas de coleta.....   | 53 |
| <b>Fig. 10-</b> Porcentagem média do tecidos parenquimático presente em bainhas foliares de três cultivares de <i>P. purpureum</i> em três épocas de coleta.....   | 54 |
| <b>Fig. 11-</b> Porcentagem média dos tecidos presentes na região do limbo foliar de três cultivares de <i>P. purpureum</i> em três épocas de coleta.....  | 57 |
| <b>Fig. 12-</b> Porcentagem média do tecido parenquimático presente na região do limbo foliar de três cultivares de <i>P. purpureum</i> em três épocas de coleta.....  | 58 |
| <b>Fig. 13-</b> Porcentagem média dos tecidos presentes na região da quilha foliar de três cultivares de <i>P. purpureum</i> em três épocas de coleta.....   | 61 |
| <b>Fig. 14-</b> Porcentagem média do tecido parenquimático presente na região da quilha foliar de três cultivares de <i>P. purpureum</i> em três épocas de coleta.....   | 62 |
| <b>Fig. 15-</b> Porcentagem média dos tecidos presentes em caules de três cultivares de <i>P. purpureum</i> em três épocas de coleta. ....   | 64 |
| <b>Fig. 16-</b> Porcentagem média do tecido parenquimático presente no caule de três cultivares de <i>P. purpureum</i> em três épocas de coleta.....   | 65 |
| <b>Fig. 17-</b> Secções transversais de <i>P. purpureum</i> . <b>A-</b> Feixe de grande porte do limbo foliar não submetido à incubação; <b>B-</b> Idem fig. anterior, após digestão por 48 h.; <b>C-</b> Secção do caule não submetido à incubação; <b>D-</b> Idem a fig. anterior, após digestão por 48 h. (MF).....                                     | 76 |
| <b>Fig. 18-</b> Secções transversais de <i>P. purpureum</i> . <b>A-</b> Região da quilha foliar não submetida à digestão <i>in vitro</i> ; <b>B-</b> Idem a fig. anterior, após 48 h de incubação em líquido ruminal; <b>C-</b> Bainha foliar não submetida à incubação; <b>D-</b> Idem a fig. anterior, após 48 h sob digestão <i>in vitro</i> . (MF).... | 77 |
| <b>Fig. 19-</b> Secções transversais da bainha foliar de <i>P. purpureum</i> após 48 h de incubação em líquido ruminal. <b>A-</b> Região do floema em grande estágio de degradação; <b>B-</b> Células parenquimáticas do mesofilo com paredes atacadas pelos microorganismos e com grande quantidade de massa microbiana aderida às paredes. (MF).....     | 78 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Fig. 20-</b> Secções transversais de <i>P. purpureum</i> . A- Bainha foliar após 24 h de incubação em líquido ruminal de bovinos; B- Limbo foliar, após 48 h de incubação; C- Bainha foliar após 48 h de incubação, destacando-se feixes transversais que interconectam os longitudinais; D- Idem a fig. anterior, após 48 h de incubação, revelando os feixes líbero-lenhosos aderidos à epiderme da face abaxial; E- Idem a fig. anterior, após 24 h de incubação (MEV)..... | 79 |
| <b>Fig. 21-</b> Secções transversais da bainha foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Empasc 307 Testo, da primeira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h. (MF).....  | 80 |
| <b>Fig. 22-</b> Secções transversais da bainha foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Empasc 307 Testo, da terceira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF).....  | 81 |
| <b>Fig. 23-</b> Secções transversais da bainha foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Roxo, da primeira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h. (MF).....  | 82 |
| <b>Fig. 24-</b> Secções transversais da bainha foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Roxo, da terceira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF).....  | 83 |
| <b>Fig. 25-</b> Secções transversais da bainha foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Empasc 309 Areia, da primeira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF).....  | 84 |
| <b>Fig. 26-</b> Secções transversais da bainha foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Empasc 309 Areia, da terceira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF).....  | 85 |
| <b>Fig. 27-</b> Secções transversais do limbo foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Empasc 307 Testo, da primeira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF).....   | 86 |
| <b>Fig. 28-</b> Secções transversais do limbo foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Empasc 307 Testo, da terceira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF).....   | 87 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Fig. 29-</b> Secções transversais do limbo foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Roxo, da primeira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF).....              | 88 |
| <b>Fig. 30-</b> Secções transversais do limbo foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Roxo, da terceira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF).....              | 89 |
| <b>Fig. 31-</b> Secções transversais do limbo foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Empasc 309 Areia, da primeira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF).....  | 90 |
| <b>Fig. 32-</b> Secções transversais do limbo foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Empasc 309 Areia, da terceira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF).....  | 91 |
| <b>Fig. 33-</b> Secções transversais da quilha foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Empasc 307 Testa, da primeira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF)..... | 92 |
| <b>Fig. 34-</b> Secções transversais da quilha foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Empasc 307 Testa, da terceira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF)..... | 93 |
| <b>Fig. 35-</b> Secções transversais da quilha foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Roxo, da primeira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF).....             | 94 |
| <b>Fig. 36-</b> Secções transversais da quilha foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Roxo, da terceira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF).....             | 95 |
| <b>Fig. 37-</b> Secções transversais da quilha foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Empasc 309 Areia, da primeira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF)..... | 96 |
| <b>Fig. 38-</b> Secções transversais da quilha foliar de <i>P. purpureum</i> cv. Empasc 309 Areia, da terceira coleta. A- Após 6h sob digestão <i>in vitro</i> ; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF)..... | 97 |

- Fig. 39-** Secções transversais do caule de *P. purpureum* cv. Empasc 307 Testa, da terceira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)..... 98
- Fig. 40-** Secções transversais do caule de *P. purpureum* cv. Roxo, da primeira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)..... 99
- Fig. 41-** Secções transversais do caule de *P. purpureum* cv. Roxo, da terceira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h. (MF)..... 100
- Fig. 42-** Secções transversais do caule de *P. purpureum* cv. Empasc 309 Areia, da primeira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h. (MF)... 101
- Fig. 43-** Secções transversais do caule de *P. purpureum* cv. Empasc 309 Areia, da terceira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)..... 102

## RESUMO

Os ruminantes utilizam os nutrientes disponíveis nas forragens através de um complexo processo de fermentação. Este fenômeno é produzido pela biota presente no rúmen-retículo, os quais são compartimentos que fazem parte do aparelho digestivo dos ruminantes. A qualidade das forragens afeta diretamente a expressão do máximo desempenho produtivo dos ruminantes. Fatores genéticos e ambientais são determinantes na qualidade das forragens. Estes efeitos podem ser observados na composição química e na organização dos tecidos vegetais. O acompanhamento das principais modificações químicas na composição dos vegetais e sua relação com o processo de digestão ruminal é tarefa rotineira nos laboratórios de nutrição de ruminantes. Constituiu-se entretanto, tarefa desafiadora, estabelecer estas relações associando às modificações anatômicas do vegetal. Dessa maneira constituiu-se objetivo do presente trabalho registrar as principais alterações anatômicas ocorridas em três cultivares de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum cultivar Roxo, cultivar EMPASC 307 Testa e cultivar EMPASC 309 Areia) em três estágios de maturação fisiológica (4, 8 e 16 semanas após o rebrote). As características anatômicas das amostras estudadas foram relacionadas com os possíveis efeitos nos processos de digestão ruminal após 6, 24 e 48 horas de incubação em líquido ruminal de bovinos. Ao se abordar alguns aspectos morfológicos, observou-se que o cultivar Roxo apresentou porte mais elevado perante os demais, além de lâminas e bainhas foliares mais longas. Em termos gerais, os três cultivares apresentaram estruturas anatômicas semelhantes. Como característica peculiar, constatou-se a presença do aerênquima na bainha foliar a partir da segunda coleta (8 semanas), em todos os cultivares. Este tecido foi relacionado como um importante fator que pode favorecer a degradação, mesmo em tecidos maduros. Entretanto, determinou-se que a proporção de tecidos lignificados aumentou com a maturidade do vegetal e que afetou negativamente a degradação. O cultivar EMPASC 307 Testa apresentou características de lignificação e estrutura dos tecidos que sugerem ser o cultivar com o menor potencial de degradação ruminal. Esta tendência foi confirmada após análise dos tecidos submetidos à degradação. Constatou-se que a presença de estômatos contribui no aumento da degradação do mesofilo, pois facilita o acesso dos microorganismos às camadas de tecidos mais internos.

**Palavras-chave:** anatomia vegetal; anatomia vegetal quantitativa; degradação de tecidos; digestibilidade *in vitro*; *Pennisetum purpureum*; capim-elefante.

## ABSTRACT

Ruminants take up nutrients from forage through a complex fermentation process and this fermentation process is carried out by the biota present in the rumen-reticulum. The forage quality affects directly the maximum productive performance in ruminants. These effects can be observed on chemical composition and vegetal tissues organization. The accompaniment of the main changes in the chemical composition at plant tissues submitted to ruminal digestion is routinely performed in laboratories working on ruminant nutrition. However, it constitutes a defiant job to establish these relationships with plant anatomy. The objective of this work was to investigate the anatomical changes occurred in three cultivars of elephant-grass (*Pennisetum purpureum* Schum. cultivar Roxo, cultivar EMPASC 307 Testo and cultivar EMPASC 309 Areia) at three stages of physiological maturity (4, 8 and 16 weeks after sprouting). The studied anatomical features were related to the possible effects at the ruminal digestion 6, 24 and 48 hours after incubation in the cattle ruminal fluid. Analysis of the external morphology showed that the cultivar Roxo was taller and presented both, leaf blades and sheaths longer when compared to the other cultivars. In general, the three cultivars presented similar anatomy. A unique feature, the presence of aerenchyma, was found in the leaf sheath of all three cultivars, at the second harvest (8 weeks). The presence of this aerenchyma can make the tissue degradation easier, specially in old tissues. The amount of lignified tissues increased with plant maturity, which affected negatively the tissue degradation. The cultivar EMPASC 307 Testo presented lignification and tissue organization that suggests lower potential for tissue degradation. This trend was confirmed by the analysis of tissue subjected to degradation. A positive relationship was found between the presence of stoma and mesophyll degradation, suggesting that the presence of the stoma facilitate microorganism access to the inner tissue layers.

**Key words:** grass anatomy; quantitative grass anatomy; tissue degradation; *in vitro* digestibility; *Pennisetum purpureum*; elephant-grass.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 - A família Poaceae e a espécie *Pennisetum purpureum* Schumacher

A família Poaceae (Gramineae) é uma das mais numerosas entre as fanerógamas e de grande importância econômica (GEMTCHUJNICOV, 1976). Compreende cerca de 8.000 espécies agrupadas em aproximadamente 500 gêneros, sendo estes agrupados em 50-60 tribos (BOGDAM, 1977; CRONQUIST, 1981).

O gênero *Pennisetum* Richard ex Persoon é amplamente utilizado no Brasil como forragem para corte, silagem e pastoreio direto. Ocorrem espécies subtropicais como *P. clandestinum* Hochst. ex Chiov. (capim-quicuio) e tropicais como *P. purpureum* Schum. (capim-elefante ou capim-napiê) e *P. typhoides* (Burm.) Stapf (pasto-italiano ou milheto) (ARAÚJO, 1966; ALCÂNTARA e BUFARAH, 1992).

Originário do continente africano, *P. purpureum* ocorre naturalmente em vários países, como a Guiné, no oeste, distribuindo-se até Angola e Rodésia (atual Zimbábue), no sul, e Moçambique e Quênia, no leste africano. Nessas regiões, a sua ocorrência natural se dá em áreas com precipitação pluviométrica superior a 1.000 mm/ano (BRUNKEN, 1977, *apud* TCACENCO e BOTREL, 1994).

Após seu reconhecimento como forrageira de alto valor para a alimentação de rebanhos, principalmente bovinos, o capim-elefante foi introduzido em vários países, sendo atualmente encontrado em regiões tropicais e subtropicais, em altitudes que variam desde o nível do mar até 2.000 m (BOGDAN, 1977).

O capim-elefante multiplica-se por pedaços de rizomas, bem como por estacas tiradas dos colmos mais desenvolvidos, e plantados em sulcos. Adapta-se aos mais variados tipos de solos, desde os férteis aos mais esgotados, e desde os úmidos aos

mais secos e bem drenados. Seu crescimento é rápido, possibilitando um primeiro corte após 2 a 4 meses do plantio (SMITH *et al.* , 1982).

Numerosas análises químicas demonstram que o capim-elefante quando novo (até 1,2-1,3 m), é uma gramínea que apresenta elevado valor nutritivo. Porém, na floração, os colmos ficam muito duros, fibrosos e lignificados. Por outro lado, neste estágio as folhas da metade inferior apresentam-se secas, tornando o valor nutritivo muito baixo (OTERO, 1961).

De acordo com CRONQUIST (1981), CHASE e SENDULSKY (1991), *P. purpureum* apresenta a seguinte posição taxonômica:

|             |                            |
|-------------|----------------------------|
| Divisão:    | Magnoliophyta              |
| Classe:     | Liliopsida                 |
| Subclasse:  | Commelinidae               |
| Ordem:      | Cyperales                  |
| Família:    | Poaceae (Gramineae)        |
| Subfamília: | Panicoideae                |
| Tribo:      | Paniceae                   |
| Gênero:     | <i>Pennisetum</i> Rich.    |
| Espécie:    | <i>P. purpureum</i> Schum. |

Apesar do grande número de cultivares que se encontram disponíveis em coleções ou que estão sendo utilizados por produtores, não existe uma lista mínima de descritores que permita a perfeita distinção entre os mesmos, a exemplo do que ocorre com outras espécies forrageiras, como *Lolium* sp, *Festuca* sp e outras. O que dificulta a determinação precisa de cultivares de capim-elefante é que, muitas vezes, o mesmo cultivar é introduzido em diversos locais sem que as identificações originais sejam mantidas. As introduções são rebatizadas, geralmente com nomes locais, ou são

denominados popularmente por Napier ou Cameroon, nomes que deveriam ser reservados apenas para estes dois cultivares (TCACENCO e BOTREL, 1994).

Outra característica importante, referente a *P. purpureum* é que, assim como a maioria das gramíneas de clima tropical e subtropical, o processo de assimilação do CO<sub>2</sub> difere daquele apresentado pelas gramíneas de clima temperado, como *Lolium perenne* L. (azevém) por exemplo. Essa diferença no processo de assimilação do CO<sub>2</sub> está geralmente associada a alterações na rota bioquímica deste processo, bem como alterações na anatomia foliar. Na folha das gramíneas, o mesofilo (conjunto de tecidos localizados entre as duas faces da epiderme) consiste de células pequenas, relativamente uniformes, contendo pequenos cloroplastos e, uma ou duas camadas de células grandes, rodeando os feixes vasculares. No caso destas gramíneas tropicais, estas células possuem parede mais espessa e grandes cloroplastos, freqüentemente de forma linear caracterizando uma estrutura anatômica conhecida como **tipo Kranz** (LAETSCH, 1974). Nas gramíneas de clima temperado estas células possuem parede celular delgada e geralmente nenhum cloroplasto, sendo tal estrutura conhecida como **tipo não-Kranz**. Nestas gramíneas temperadas, o processo de assimilação do CO<sub>2</sub> é então chamado **Ciclo de Calvin ou C<sub>3</sub>**, onde os produtos iniciais de assimilação do carbono são ácidos 3-fosfoglicéricos (COOPER e TAINTON, 1968, *apud* BOGDAN, 1977). A enzima utilizada como catalizadora da assimilação do CO<sub>2</sub> é a RuBP carboxilase-oxigenase, porém, esta enzima tem uma baixa afinidade pelo CO<sub>2</sub> e eventualmente incorpora oxigênio na RuBP, resultando na fotorrespiração, o que acarreta perda de energia para a planta. Nas espécies com síndrome Kranz e via fotossintética C<sub>4</sub>, já que nem todas as espécies que apresentam esta síndrome possuem tal via de assimilação de CO<sub>2</sub>, os produtos iniciais da fotossíntese são ácidos de 4 carbonos (malato, aspartato, oxaloacetato) e o ciclo fotossintético é conhecido por **via C<sub>4</sub>**. As células mesofílicas usam uma enzima diferente para incorporar o CO<sub>2</sub> com mais eficiência e transformar em ácido oxaloacético ou outros ácidos orgânicos. O fato

importante é que estes ácidos são transportados para a bainha do feixe vascular, onde são descarboxilados. O CO<sub>2</sub> é liberado em apenas uma camada de células, aumentando significativamente a concentração interna de CO<sub>2</sub> nestas células. Este aumento local na concentração de CO<sub>2</sub> inibe o número de oxigenações da RuBP, aumentando a eficiência de carboxilação. Os cloroplastos da bainha podem retirar este CO<sub>2</sub> e a RuBP carboxilase pode trabalhar mais eficientemente (MAUSETH, 1988; FOSKET, 1994). Por isto a via C<sub>4</sub> pode trabalhar sob menor concentração de CO<sub>2</sub> na atmosfera. A temperatura ótima para o Ciclo de Calvin é em torno de 15-20°C, enquanto para a via C<sub>4</sub> é de 30-40°C (BOGDAN, 1977).

Todas estas diferenças entre os dois tipos de processos, conferem uma evidente vantagem à via C<sub>4</sub>, possibilitando ao capim-elefante apresentar alta capacidade fotossintética com temperaturas relativamente altas, maior eficiência na utilização de água, resultando em produções consideráveis de matéria seca e proteína bruta, principalmente quando altas doses de nitrogênio são aplicadas à cultura (JACQUES, 1994).

## 1.2 - Os ruminantes

Os ruminantes constituem a sub-ordem *Ruminatia* dos *Artiodactyla* e compreendem 5 famílias e 165 espécies (VAN SOEST, 1982, *apud* DESCHAMPS, 1995). Entre os ruminantes domésticos, a família *Bovidae* compreende 54 gêneros e 120 espécies, tendo como principais representantes os bovinos, ovinos e bubalinos, entre outros (DESCHAMPS, 1995).

De acordo com CHURCH (1974), SILVA e LEÃO (1979), VAN SOEST (1982), todos *apud* DESCHAMPS (1995), na evolução das espécies, os vertebrados não desenvolveram em seu trato digestivo enzimas capazes de hidrolizar ligações glicosídicas β(1→4); no entanto, os ruminantes desenvolveram modificações anatômicas no aparelho

digestivo (**rúmen, retículo, omaso e abomaso**) que, associadas à presença de microorganismos celulolíticos, possibilitam o aproveitamento da celulose e outros polissacarídeos como, por exemplo, a hemicelulose.

O rúmen e o retículo funcionam como verdadeiras câmaras de fermentação para a ação dos microorganismos sobre os alimentos fibrosos. CHURCH (1974, *apud* DESCHAMPS, 1995), descreveu o rúmen como um ambiente favorável para o crescimento microbiano. O pH variando entre 5,5 e 7,0 e a temperatura entre 39 e 40°C, são condições ótimas para muitas espécies de microorganismos e sistemas enzimáticos. Estes órgãos podem se constituir em um excelente fermentador contínuo, pois, os alimentos chegam e são digeridos continuamente, sendo os produtos da fermentação imediatamente absorvidos pela parede ruminal ou nos respectivos segmentos do aparelho digestivo.

A energia para a produção animal, a partir da maioria das forragens, é largamente obtida através da fermentação das paredes celulares pelos microorganismos do rúmen. Altos ganhos de peso e produção de leite, pelos ruminantes, requerem uma alta entrada de forragem e uma alta digestibilidade (WILSON, 1993).

### 1.3 - Microbiologia do rúmen e digestibilidade *in vitro*

Associado à adaptação morfo-fisiológica peculiar do aparelho digestivo dos ruminantes, o rúmen abriga uma considerável diversidade de microorganismos adaptados à digestão anaeróbica dos componentes da parede celular. É conhecido que a alimentação adequada dos ruminantes é, antes de mais nada, diretamente dependente da correta nutrição da biota ruminal. Tal biota, é formada por diversas espécies dentre os grandes grupos de microorganismos compreendidos pelas **bactérias, protozoários e fungos**. Já foram identificadas no rúmen, cerca de 200 espécies de bactérias, sendo 20 delas mais freqüentes. Também foram identificados, mais de 20 espécies de protozoários e cerca de

13 espécies de fungos (TEUNISSEN *et al.*, 1991, MARTIN, 1994, ambos *apud* DESCHAMPS, 1995).

Segundo DESCHAMPS (1995), é consensual entre diversos autores, que as bactérias são os microorganismos que contribuem com a maior parcela do processo de digestão ruminal dos componentes da parede celular.

De acordo com HUNGATE (1966), DEHOROTY (1968), SMITH *et al.* (1973), todos *apud* AKIN (1979), a ação das bactérias está intimamente associada à aderência ou a uma grande proximidade desses microorganismos à superfície da parede celular a ser digerida. A importância desta aderência ou proximidade também foi manifestada por WILSON (1993) e McALLISTER *et al.* (1994, *apud* DESCHAMPS, 1995).

O uso de técnicas microscópicas na avaliação da digestão de forragens fornece informações a partir de uma perspectiva e auxilia na elucidação de fatores que afetam a degradação de forragens por microorganismos do rúmen. Em estudos de digestão de forragens, utilizando-se microscopia, são encontradas diferenças na anatomia da planta e gradientes de lignificação que afetam a digestibilidade entre espécies e partes da planta (AKIN, 1979).

A digestibilidade de diferentes órgãos vegetativos das plantas forrageiras, tais como a lâmina e a bainha foliar, pecíolos e caules, está associada com a proporção relativa dos tipos de tecidos (por exemplo, mesofilo, feixe vascular) em cada órgão (AKIN *et al.*, 1983; AKIN, 1989; WILSON, 1993), demonstrando então a importância de se determinar as porcentagens dos diferentes tecidos presentes nestes órgãos.

É sugerido por AKIN *et al.* (1983), que a melhoria da qualidade da forragem pode resultar do melhoramento de plantas para aumentar a degradação de tecidos, sem alteração da estrutura anatômica básica da folha. O melhoramento na qualidade também pode ser possível com o intuito de aumentar a proporção do conteúdo de mesofilo, mas tais mudanças, podem nem sempre melhorar a digestibilidade, ainda que o mesofilo de

algumas espécies seja melhor degradado que de outras. De modo geral, verifica-se que maiores quantidades de tecidos vasculares lignificados e esclerenquimáticos proporcionam menores taxas de digestibilidade (WILSON, 1976a; RODELLA *et al.*, 1982 e 1984; VENTRELLA e RODELLA, 1996).

Assim como em outras gramíneas forrageiras, a qualidade da forragem de capim-elefante está diretamente relacionada com a idade da planta ou com o intervalo entre cortes. Com o aumento de qualquer uma destes parâmetros, a planta acumula matéria seca, reduz os teores de proteína bruta e digestibilidade de forragem disponível, principalmente em função do decréscimo da relação folha/caule (SOUZA, 1991).

#### **1.4- Objetivos**

Considerando o que foi exposto, o presente trabalho teve por objetivo determinar as porcentagens dos diferentes tecidos nos caules, lâminas e bainhas foliares de três cultivares de *P. purpureum*, em três épocas distintas de coleta, e analisar o grau de degradação *in vitro* destes tecidos pelos microorganismos presentes no líquido ruminal de bovinos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

A espécie *P. purpureum* tem sido pouco estudada no que diz respeito às suas características morfo-anatômicas. METCALFE (1960) fez uma descrição anatômica do gênero *Pennisetum*, porém restringindo-se às espécies *P. clandestinum* e *P. macrourum*.

Em 1980 e 1981, foram publicados por HÄFLIGER e SCHOLZ dois volumes de uma obra inteiramente dedicada às gramíneas, na área da taxonomia, onde foram abordadas principalmente as características morfológicas e a dispersão das espécies pelo mundo, dentre elas o *P. purpureum*.

No trabalho de DAHLGREN e CLIFFORD (1982), foram abordados alguns aspectos taxonômicos e morfo-anatômicos, sendo citado em alguns casos o capim-elefante. Porém, a maioria das descrições apresentadas neste trabalho restringiram-se ao nível de sub-família e tribo.

Os trabalhos de TCACENCO e LANGE (1992) e TCACENCO e BOTREL (1994), abordaram a diferenciação de cultivares de *P. purpureum*, inclusive os cultivares EMPASC 307 Testo (anteriormente chamado IJ-7136) e EMPASC 309 Areia (anteriormente chamado IJ-7127), também estudados no presente trabalho. Algumas informações botânicas, principalmente taxonômicas também foram citadas por estes autores.

A caracterização isoenzimática foi realizada por AUGUSTIN e TCACENCO (1993), com 58 cultivares de *P. purpureum*, incluindo também os cv. EMPASC 307 Testo e EMPASC 309 Areia, sendo que os autores descrevem que este modo de caracterização foi preciso na diferenciação dos cultivares, já que a taxonomia vegetal, neste nível infra-específico, nem sempre é eficaz.

JACQUES (1994), também trabalhou especificamente com o capim-elefante, porém, abordando alguns aspectos morfo-fisiológicos desta espécie.

Quanto às suas características agronômicas e nutricionais, existem inúmeras obras no campo da forragicultura, como por exemplo OTERO (1961), ARAÚJO (1966), PUPO (1980), ALCÂNTARA e BUFARAH (1992) e HILLESHEIM *et al.* (1995), que abordaram características agronômicas e principalmente métodos de cultivo. Foram mencionadas por MORRISON (1955), algumas características nutricionais do capim-elefante, mas o seu uso como forrageira nos Estados Unidos da América foi remetido à edição não condensada desta mesma obra, datada de 1948. Atualmente, inúmeros livros que abrangem especificamente a nutrição animal, como por exemplo ANDRIGUETO *et al.* (1988), abordam as qualidades nutricionais desta forrageira.

No Brasil, foram desenvolvidos inúmeros trabalhos envolvendo o capim-elefante, avaliando o efeito da maturidade do vegetal na sua composição bromatológica (ANDRADE e GOMIDE, 1971; SILVEIRA *et al.*, 1974).

O estudo da digestibilidade em bovinos e ovinos, bem como o seu fornecimento como silagem ou pasto verde foi estudado por MELOTTI (1983).

A comparação da digestibilidade do capim-elefante entre bovinos europeus (*Bos taurus*) e indianos (*Bos indicus*) foi observada por NOGUEIRA FILHO *et al.* (1982). No entanto, estes trabalhos nem sempre envolveram a digestibilidade, e quando estudavam-na, esta era avaliada a partir do exame dos resíduos fecais dos animais, não mencionando nem a digestibilidade *in vitro*, nem a sua associação com a anatomia dos órgãos vegetativos.

Poucas características do *P. purpureum* foram citadas por MONSON *et al.* (1972), pois estes somente descreveram um procedimento rápido para avaliação da digestibilidade *in vitro* em laboratório. Tais autores apenas comentaram que as folhas do capim-elefante, apresentaram uma degradação mais lenta do que as de um híbrido de

pasto-italiano (*P. typhoides*), e uma cutícula espessa, que demonstrou ser uma barreira para a digestão, mesmo após 48 h de incubação. Os autores ainda citaram que ambas as forragens apresentaram pouquíssima degradação em períodos inferiores a 6 h.

O efeito da quantidade de lignina na digestibilidade de outros componentes da parede celular, foi sugerida por KEFFORD (1958) e JOHNSTON e WAITE (1965), porém, a relação quantitativa entre a presença de tecidos lignificados e a digestibilidade, não foram explorados. A observação de WILKINS (1969), de que alguns materiais permaneciam intactos após um tempo prolongado de digestibilidade *in vitro*, indicaram que características da estrutura da planta poderiam limitar a degradação por microorganismos do rúmen. O estudo da anatomia foliar e suas relações com o valor nutricional foram comprovadas quando WILKINS (1972) e WILSON (1976b), quando verificaram a possibilidade de se associar a proporção de tecidos esclerenquimáticos e vasculares com a qualidade nutricional de uma espécie forrageira.

Em 1973, HANNA *et al.* comparando a anatomia foliar entre gramíneas tropicais e temperadas, e suas respectivas digestibilidades, encontraram uma seqüência de degradação dos diferentes tecidos, sendo, as células parenquimáticas do mesofilo, o floema e a epiderme, nesta ordem, os primeiros tecidos a sofrerem ataque pelos microorganismos ruminais. Em seguida, a bainha do feixe vascular, que circunda os feixes vasculares, sofreu alguma degradação, enquanto a cutícula, os tricomas, o xilema, o esclerênquima e a bainha mestomática, não foram digeridos.

Nos trabalhos de RODELLA *et al.* (1982 e 1984), que caracterizaram a anatomia foliar de duas espécies dos gêneros *Brachiaria* e *Panicum*, respectivamente, indicaram o potencial de digestibilidade da celulose, já que maiores quantidades de tecidos lignificados e vasculares apresentaram menores taxas de digestibilidade. Seguindo esta característica, AKIN e BURDICK (1975), sugeriram uma relação negativa entre a digestibilidade da celulose e a presença de lignina e de tecidos lignificados.

Segundo AKIN *et al.* (1973), a presença ou a quantidade de determinados tecidos, afetam a digestibilidade de uma forrageira, sugerindo diferenciadas taxas de digestibilidade em relação aos diferentes tecidos vegetais. Neste mesmo experimento, os referidos autores ainda constataram que o potencial de digestibilidade está relacionado com o tempo de exposição do tecido aos microorganismos ruminais.

Observando-se somente o mesofilo, este apresenta uma significativa variação em sua digestibilidade, quando se estudam gramíneas tropicais e temperadas. O mesofilo das gramíneas temperadas possui maiores espaços intercelulares, enquanto nas tropicais, o mesofilo possui menores espaços intercelulares, estando as células parenquimáticas mais próximas umas das outras. O arranjo das células está intimamente relacionado à digestibilidade, pois quanto mais próxima a disposição das células, mais difícil será o acesso dos microorganismos a elas (MINSON e McLEOD, 1970 *apud* HACKER e MINSON, 1981; HANNA *et al.*, 1973; AKIN e BURDICK, 1975; HACKER e MINSON, 1981; AKIN *et al.*, 1983; WILSON, 1993). Segundo WILSON (1993), o arranjo das células e o respectivo acesso dos microorganismos ruminais, é um problema até mais significativo do que a lignificação das paredes celulares.

Este aspecto do arranjo das células do mesofilo, também foi abordado por AKIN *et al.* (1983), quando estes estudaram espécies  $C_3$ ,  $C_4$  e intermediárias  $C_3 / C_4$  de *Panicum*. Estes autores constataram que as espécies intermediárias  $C_3 / C_4$  apresentaram menores taxas de digestibilidade deste tecido que as demais, provavelmente devido ao fato das células estarem mais próximas umas das outras.

As paredes celulares das células mesofilicas não são lignificadas, e são consideradas as mais rapidamente digeridas, em relação aos demais tipos de células (AKIN, 1989), sendo constatada alguma digestão ou o desaparecimento de células mesmo antes de 3 h de incubação (SLEPER e ROUGHAN, 1984 *apud* WILSON, 1993), e praticamente completa, em menos de 12 h (CHESSON *et al.*, 1986). No entanto, também

existem registros de remanescentes de mesofilo não digerido após 36 h ou mais (AKIN *et al.*, 1977 e 1984; HASTER *et al.*, 1983 *apud* WILSON, 1993).

Vários autores constataram ser o floema o segundo tecido a ser digerido, perdendo para o mesofilo devido ao pequeno tamanho das células que o compõe, e ao seu arranjo das células (AKIN *et al.*, 1973; HANNA *et al.*, 1973; AKIN e BURDICK, 1975; AKIN, 1982). Um fator positivo para a digestão do floema, é o pequeno grau de lignificação de suas paredes celulares, o que nem sempre ocorre com o mesofilo (AKIN *et al.*, 1990). Esta rápida digestão do floema foi ratificada por HACKER e MINSON (1981), os quais acrescentaram que o floema em folhas mais jovens é mais digerido do que nas folhas mais velhas. Contudo, como as células do floema não sofrem lignificação, tal redução na degradação do floema com o envelhecimento da folha provavelmente esteja associada ao aumento da lignificação dos tecidos que protegem o floema.

O terceiro tecido, na seqüência de digestão, é a epiderme. Porém, esta só ocorre após a digestão parcial ou total do mesofilo e do floema. Entretanto, a epiderme é principalmente digerida na sua parte interna, ou seja, as paredes periclinais internas e anticlinais. As periclinais externas, tornando-se espessas, lignificadas e recobertas pela cutícula e ceras, são muito pouco digeridas ou nem sofrem ataque dos microorganismos (AKIN *et al.*, 1973; HANNA *et al.*, 1973; AKIN *et al.*, 1990; WILSON, 1993), principalmente em função do restrito acesso dos microorganismos (HACKER e MINSON, 1981; WILSON, 1993). Esta deposição é mais pronunciada no caule do que nas folhas, e da face abaxial para a adaxial em lâminas e bainhas foliares (WILSON, 1993).

Essa baixa taxa de digestibilidade da cutícula e da epiderme foi comprovada por AKIN e BURDICK (1981), que encontraram em restos fecais de animais arraçados com gramíneas, resíduos de epiderme, de cutícula e de tecidos mais lignificados. Foi diferenciado por AKIN *et al.* (1983), a digestibilidade da epiderme das faces adaxial e abaxial da folha, sendo que estes autores revelaram que a face adaxial possui uma maior

degradação que a abaxial, justificando que esta última geralmente possui uma cutícula mais espessa. Foi acrescentado por MAGAI *et al.* (1994), que a epiderme da face abaxial de *Sorghastrum nutans* e *Panicum virgatum*, ambas gramíneas tropicais, não foi digerida mesmo depois de 72 h de incubação. Em oposição, AKIN e BURDICK (1975), estudando a digestibilidade de folhas de *Cynodon dactylon*, citaram que a epiderme da face abaxial foi digerida após 24 h sob incubação em líquido ruminal.

Pode-se salientar ainda, que as células epidérmicas de várias espécies de gramíneas contêm altos níveis de sílica, principalmente na forma de corpos silicosos, que segundo KAUFMAN *et al.* (1985 *apud* WILSON, 1993), formam estruturas indigeríveis.

Outro fator pouco explorado mas que, segundo WILSON *et al.* (1989 *apud* WILSON, 1993), tem influência na ruptura e desintegração da epiderme das gramíneas tropicais, e portanto, no acesso dos microorganismos às paredes celulares, é que as células longas (em vista frontal), apresentam paredes anticlinais sinuosas, proporcionando uma grande união entre as células, o que exige uma cisão da célula e não a simples separação pela lamela média.

A degradação da bainha do feixe vascular é bastante lenta quando comparada ao mesofilo (AKIN e BURDICK, 1977). Foi verificado por HANNA *et al.* (1973) e AKIN *et al.* (1983), um gradiente de lignificação da bainha do feixe vascular, sendo que a camada mais externa, que possui paredes menos espessadas, possui uma degradação mais rápida do que a camada interna, também conhecida como bainha de mestoma ou mestomática. Esta bainha mestomática permanece intacta, mesmo após longos períodos de incubação em líquido ruminal (AKIN *et al.*, 1973 e 1974; HANNA *et al.*, 1973; AKIN e BURDICK, 1981). Os feixes vasculares de grande porte, localizados na folha de *Pennisetum*, podem apresentar uma bainha mestomática descontínua e discreta (METCALFE, 1960).

A bainha do feixe vascular de gramíneas tropicais é mais espessa e sua degradação é bem mais lenta do que em gramíneas temperadas (AKIN e BURDICH, 1975). Foram apresentadas por AKIN *et al.* (1983), taxas de degradação entre 90-100% para a bainha do feixe vascular de espécies C<sub>3</sub> e intermediárias C<sub>3</sub> / C<sub>4</sub>, e de apenas 50% para algumas espécies de gramíneas C<sub>4</sub>, sugerindo que este seria o principal fator limitante da qualidade destas espécies. Também se pode acrescentar a este fato, o difícil acesso das bactérias presentes no líquido ruminal às reservas de amido contidas nestas bainhas (AKIN, 1979; AKIN *et al.*, 1983), devido à espessura das paredes celulares de suas células (AKIN *et al.*, 1983), que só se tornam disponíveis aos microorganismos após a ruptura das paredes celulares (AKIN e BURDIK, 1977).

A bainha do feixe vascular é uma estrutura que possui uma grande importância na digestibilidade das folhas das gramíneas C<sub>4</sub>. Ela compreende uma significativa proporção do volume foliar (WILSON, 1993) e também sua presença aumenta o volume do feixe vascular nas gramíneas C<sub>4</sub> em três vezes, quando comparado com o tecido vascular isolado (WILSON *et al.*, 1989).

O tecido esclerenquimático, nos diferentes órgãos da planta, é considerado indigerível após 24 h (HANNA *et al.*, 1973; AKIN e BURDICK, 1975; AKIN *et al.*, 1990), ou mesmo após 72 h sob digestibilidade *in vitro* (AKIN e BURDIK, 1975). Certamente trata-se de um tecido de difícil degradação, tendo apresentado resposta positiva ao teste de lignina (AKIN e BURDICK, 1981; AKIN *et al.*, 1990). Contudo, as células do tecido esclerenquimático podem sofrer alguma degradação, principalmente as da periferia (AKIN e BURDICK, 1981; AKIN, 1989), ou mesmo sofrerem uma degradação mais expressiva quando associadas às bactérias filamentosas (AKIN e BURDICK, 1981), e em algumas vezes, mostrando-se até mais digeríveis do que o tecido vascular lignificado e a cutícula (AKIN *et al.*, 1974).

A extensão da lignificação no esclerênquima, considerando-se vários órgãos, geralmente tem se apresentado da seguinte forma: tecidos velhos > tecidos jovens; caule > quilha foliar; bainha foliar > lâmina foliar (WILSON, 1993).

Quando GRABBER (1992 *apud* VENTRELLA, 1995), estudou as paredes celulares de células esclerenquimáticas isoladas, concluiu que a taxa e a extensão da digestibilidade deste tecido estão mais relacionadas com a organização estrutural do que com a composição química da parede celular.

Por último, na seqüência de digestão, encontra-se o xilema, já que este, na maioria das vezes, não sofre nenhuma degradação, mesmo após longos períodos de incubação em líquido ruminal (AKIN *et al.*, 1973; HANNA *et al.*, 1973; AKIN e BURDICK, 1975 e 1981). Este tecido, encontra-se em maiores proporções em gramíneas tropicais (WILSON *et al.*, 1983), e em plantas que se desenvolveram sob temperaturas ambientais mais elevadas (AKIN *et al.*, 1987).

Na região da quilha, está presente um parênquima aclorofilado, principalmente nas gramíneas com grandes quilhas (p. ex. *Panicum maximum* var. *trichoglume*) (WILSON, 1976b). Neste tecido, as células possuem paredes finas e usualmente são rapidamente e quase totalmente digeridas (WILSON *et al.*, 1991).

Contudo, em gramíneas, as células parenquimáticas contribuem significativamente para os problemas na digestibilidade da bainha foliar e do caule, principalmente pelo volume que ocupam, e também porque elas podem desenvolver uma espessa parede secundária que pode lignificar-se. Os níveis de diferenciação da parede celular secundária entre as espécies é variável e no caso do caule, varia também com a sua maturidade (WILSON, 1993).

A bainha foliar pode constituir uma proporção significativa (15 a mais de 25 %), das plantas forrageiras acessíveis nos pastos (JOHNSTON e WAITE, 1965), porém pouco tem sido estudado quanto à sua anatomia quantitativa. Esta anatomia geralmente é

intermediária entre a lâmina foliar e o caule, assemelhando-se mais com o caule. Isto reflete em uma maior porcentagem de tecidos vasculares, esclerênquima e parênquima, e muito menos mesofilo e epiderme, quando comparada com a lâmina foliar. Portanto, a porcentagem de tecido vascular e esclerênquima é tão alta quanto no caule (WILSON, 1993).

Com relação à bainha foliar, quando compara-se a digestibilidade com a idade ou estágio de desenvolvimento, a bainha possui geralmente uma digestibilidade menor do que a lâmina foliar (JOHNSTON e WAITE, 1965; WILSON, 1976a; HACKER e MINSON, 1981).

Existem poucas observações microscópicas da digestão do parênquima abrangendo a bainha foliar das gramíneas (AKIN *et al.*, 1977), mas esta, assim como o caule, decresce muito a digestibilidade da matéria seca com a idade (WILSON *et al.*, 1976), sendo muito provável que alguma diferenciação da parede celular das células parenquimáticas ocorra em bainhas e caules (WILSON, 1993).

Foi descrito para o caule por HACKER e MINSON (1981), uma seqüência de digestibilidade muito semelhante a da folha, iniciando com o parênquima, em seguida epiderme e floema, o xilema e a bainha esclerenquimática dos feixes vasculares foram considerados indigeridos. Segundo WILSON (1993), todas as células epidérmicas, esclerenquimáticas e parenquimáticas do caule, aparentam ter paredes muito mais espessas do que suas correspondentes, localizadas na lâmina foliar.

Em caules, anel esclerenquimático, porções da epiderme e os tecidos dos feixes vasculares, com exceção do floema, são considerados indigeríveis, mesmo após longos períodos de incubação, e em oposição, o floema e o parênquima que têm sua digestibilidade associada à maturidade do caule (TERRY e TILLEY, 1964 *apud* AKIN, 1979; HANNA *et al.*, 1976; AKIN *et al.*, 1977; HACKER e MINSON, 1981; AKIN, 1989).

Quando o caule é jovem, o tecido vascular é isolado. Porém, em ambos os grupos de forragens (gramíneas e leguminosas), quando o caule envelhece estes feixes tornam-se unidos pela lignificação do parênquima interfascicular, de modo a formar um forte e relativamente indigerível anel de tecido lignificado (WILSON, 1993).

O caule difere das lâminas foliares no sentido de que, as características de seus tecidos mudam muito com a idade da planta (CHERNEY e MARTEN, 1982; KUHBAUCH e BESTAJOVSKY, 1985 *apud* WILSON, 1993). Esta mudança se reflete na mudança da digestibilidade *in vitro*, que pode ser maior ou menor do que a da folha, quando jovem, mas decresce mais rapidamente do que nas lâminas e bainhas foliares, quando velhos (HACKER e MINSON, 1981).

AKIN (1979), cita que as células parenquimáticas são mais rapidamente digeridas nas porções de caules jovens, mas não são digeridas nas mais velhas e que nenhuma diferença de digestibilidade foi notada nas diferentes idades de folhas ou no anel esclerenquimático, tecido vascular lignificado ou epiderme de caules.

Nos caules das gramíneas, o tecido esclerenquimático está geralmente associado aos feixes vasculares, formando uma bainha, podendo também formar um anel completo de tecido em torno da superfície, entre a epiderme e o tecido vascular (WILSON, 1993).

Quando BURTON *et al.* (1968 *apud* HACKER e MINSON, 1981), estudaram populações de capim-italiano (*Pennisetum typhoides*), descreveram que caules de variedades com florescimento precoce tendem a ser menos digeridos do que aquelas que possuem florescimento tardio.

Foi relatado por LAREDO e MINSON (1975), que mesmo com digestibilidades similares, tem sido encontrado para digestão, dentro do bolo alimentar, uma menor quantidade de caule, quando comparado com a quantidade de folha. De acordo com HENDRICKSEM *et al.* (1981), talvez isto ocorra porque o aumento do tempo

de retenção das fibras da planta no rúmen pode reduzir a quantidade de alimento ingerido, e em conseqüência, os nutrientes ingeridos pelos ruminantes (ambos *apud* AKIN *et al.*, 1984).

BROWN *et al.* (1968), revelam que alguns estudos têm mostrado que o caule faz parte de uma larga proporção do peso seco total da planta, e PRITCHARD *et al.* (1963), afirmam que este diminui sua digestibilidade mais rapidamente que as folhas (ambos *apud* AKIN *et al.*, 1984).

Analisando a planta em estratos, COSTA *et al.* (1992 *apud* VENTRELLA, 1995), estudando dois cultivares de *Panicum maximum* submetidos a diferentes tipos de manejo, e DEINUM (1976 *apud* HACKER e MINSON, 1981), trabalhando com *Zea mays*, encontraram maiores taxas de digestibilidade *in vitro* da matéria seca nos estratos superiores, onde o caule e as folhas encontram-se em estádios menos avançados de desenvolvimento. Entretanto, estudos anatômicos da folha em diferentes posições de inserção no colmo, realizados por WILSON (1976b) em *Panicum maximum* var. *trichoglume*, e por RODELLA *et al.* (1984) em *Panicum coloratum* e *Panicum maximum*, revelaram maiores proporções de tecidos lignificados em folhas com nível de inserção mais alto na planta.

A determinação da proporção de tecidos em plantas, são rotineiramente mensurados como áreas relativas em secções transversais do material vegetal. Devido a natureza longitudinal-paralela da maioria das estruturas dos tecidos, essas mensurações se aproximam bem do volume de cada tipo de tecido, com exceção às folhas das leguminosas. Contudo, a proporção de tecidos, usualmente, não leva em conta nem os espaços intercelulares, nem a espessura ou os gradientes de lignificação das paredes celulares nos diferentes tecidos. Conseqüentemente, estes dados nem sempre explicam pequenas diferenças na digestibilidade *in vitro* entre espécies e entre cultivares (WILSON, 1993).

Com relação à lâmina foliar, devido à estrutura anatômica associada à via fotossintética C<sub>4</sub>, geralmente estas possuem uma alta frequência de feixes vasculares, em relação às espécies com via C<sub>3</sub>. Este fato, determina uma maior proporção de tecidos pouco digeridos, com paredes espessas, e tecidos lignificados (p. ex. bainha do feixe vascular, esclerênquima e tecido vascular) em gramíneas C<sub>4</sub>, do que nas gramíneas tropicais e temperadas com via C<sub>3</sub> (WILSON, 1993).

A proporção dos diferentes tipos de tecidos na lâmina foliar aparentemente não se altera com o envelhecimento da folha (WILSON *et al.*, 1976; CHERNEY e MARTEN, 1982 *apud* WILSON, 1993). Contudo, esta proporção é afetada pela posição da inserção da folha na planta, com proporções maiores de esclerênquima e tecido vascular nas folhas formadas depois, do que naquelas que se formam antes (SOPER e MITCHELL, 1956 *apud* WILSON, 1993; WILKINS, 1972; WILSON, 1976b); isto está associado com o decréscimo da digestibilidade *in vitro* (WILSON, 1976a; DEINUM, 1986 *apud* WILSON, 1993).

A região da quilha é a maior nervura da folha, correspondendo à nervura principal das leguminosas. Entretanto, na área total de uma secção transversal, ela é relativamente pequena (p. ex. 6-13% em gramíneas), pode representar 18 a 28% do peso total da folha (WEELER *et al.*, 1984 *apud* WILSON, 1993; WILSON, 1990), e contém 14 a 24% dos tecidos lignificados da folha (WILSON, 1990). A quilha geralmente tem uma digestibilidade *in vitro* consideravelmente menor que a da lâmina foliar (WEELER *et al.*, 1984, STRUIK, 1985 ambos *apud* WILSON, 1993; WILSON, 1990).

A bainha dos feixes vasculares nas bainhas foliares das plantas C<sub>4</sub>, é pouco desenvolvida, e por conseqüência, as bainhas foliares das plantas C<sub>4</sub> e C<sub>3</sub> são mais similares quanto à proporção dos tecidos, do que suas respectivas lâminas foliares (WILSON, 1993). As proporções de tecidos na bainha foliar parece não se alterar com a idade (WILSON, 1976b; CHERNEY e MARTEN, 1982 *apud* WILSON, 1993), mas há um notável aumento na espessura das paredes celulares, e células lignificadas (WILSON,

1976b), e uma marcante redução na digestibilidade *in vitro* (WILSON, 1976a; AKIN *et al.*, 1977). Porém, quando o caule é jovem, as células parenquimáticas são relativamente indiferenciadas, podendo ser mais digeridas (HACKER e MINSON, 1981).

No caule das gramíneas, a maior proporção de tecidos lignificados se dá quando a inflorescência está totalmente desenvolvida (STEPPLER, 1951 *apud* WILSON, 1993). As porções mais inferiores do caule são geralmente muito mais lignificadas do que as superiores, durante seu processo de desenvolvimento, tanto em gramíneas quanto em leguminosas. Os caules de todos os tipos de forragens, têm uma alta proporção de sua área, em secção transversal, compreendida por tecidos pouco digeríveis, como por exemplo o tecido vascular das leguminosas, e o tecido vascular + esclerênquima acrescido de uma variável proporção de parênquima, nas gramíneas (WILSON, 1993).

Através da literatura consultada, pode-se verificar que a digestibilidade das forrageiras está relacionada, em parte, com os diferentes tipos e porcentagens de tecidos presentes na planta, com a idade do indivíduo e de seus órgãos, e também com o tempo mínimo de permanência deste bolo alimentar no rúmen dos animais. Tais parâmetros, proporcionam a diferenciação nutricional de espécies e cultivares e a determinação da melhor fase de desenvolvimento do vegetal onde a sua digestibilidade é mais favorável.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido em conjunto com a Empresa Catarinense de Pesquisa e Extensão Agropecuária - EPAGRI. As amostras dos materiais em estudo foram obtidas junto à Estação Experimental de Itajaí, Santa Catarina, onde também foram realizados os estudos de degradação *in vitro*. As análises estruturais foram desenvolvidas nos Laboratórios de Microtécnica Vegetal e de Botânica Estrutural, no Departamento de Botânica da UFPR e também no Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR.

#### 3.1 - Material botânico

O material botânico utilizado já se encontrava estabelecido na Estação Experimental da EPAGRI, em Itajaí, Santa Catarina, Brasil (Fig. 1- A e B), disposto em parcelas experimentais com dimensões 10 x 15 m, sob as mesmas condições edafoclimáticas (Anexo 1- Quadro 1 e 2).

Este material, constituiu-se de caules, lâminas e bainhas foliares de *P. purpureum* dos cultivares EMPASC 307 Testo (=IJ-7136), Roxo e EMPASC 309 Areia (=IJ-7127) (Fig. 1-C) coletados em três fases de desenvolvimento a partir de um emparelhamento a 30 cm do solo realizado em 16/11/1994. Para que se pudesse evidenciar o efeito do envelhecimento do vegetal, as coletas foram feitas 4, 8 e 16 semanas após o corte de emparelhamento.

A cada coleta, 5 repetições, correspondendo a 5 plantas, de cada cultivar, foram coletadas. Destas plantas, foram retiradas de cada órgão (lâmina foliar, bainha foliar e caule), cerca de 7 porções com aproximadamente 1 cm de comprimento, sendo que 2-3 porções foram fixadas para o estudo anatômico e 4-5 porções foram seccionadas em

frações de 0,1-0,2 cm, totalizando aproximadamente 20 porções, utilizadas para a análise da degradação *in vitro*.

O material destinado ao estudo anatômico foi coletado e imediatamente fixado em F.A.A. 50% por aproximadamente 48 horas e depois transferido e estocado em álcool 70%, de acordo com JOHANSEN (1940).

O material botânico foi coletado de acordo com os seguintes parâmetros:

- **Para lâminas e bainhas foliares:** na primeira coleta foram retiradas frações de 1 cm de comprimento, oriundas da porção mediana da lâmina e da bainha foliar, referente à quarta folha da planta, contada a partir da folha bandeira. Na segunda coleta as frações foram retiradas da sexta folha e, na terceira e última coleta, retirou-se as frações da décima segunda folha, seguindo-se os mesmos procedimentos realizados na primeira coleta.

- **Para caules:** foi coletada sempre a porção mediana do entrenó envolto pelas respectivas bainhas acima mencionadas, em porções de 0,5-1,0 cm.

As exsicatas do material fértil, referentes a cada cultivar, encontram-se depositadas no Herbário do Departamento de Botânica, da Universidade Federal do Paraná, UPCB, sob os n<sup>os</sup> 25.096, 25.097 e 25.098.

### **3.2 - Análise botânica estrutural e anatomia quantitativa**

Para evidenciação das estruturas epidérmicas em lâminas e bainhas foliares, foi utilizada a técnica de diafanização, descrita por STRITTMATTER (1973), e a de dissociação de tecidos, modificada a partir de FRANKLIN (1946). Paralelamente, foi feita a preparação do material para a observação e registro fotográfico em microscópio eletrônico de varredura PHILLIPS SEM 505, a partir de amostras fixadas em F.A.A. 50% e desidratadas em série alcoólica-etílica crescente até etanol absoluto e posteriormente via

ponto crítico com CO<sub>2</sub> em equipamento BALZERS CPD-010. Após montagem em suporte próprio, as amostras foram metalizadas com ouro em aparelho BALZERS SPUTTERING SCD-030.

Foram efetuadas secções transversais à mão-livre, para confecção de lâminas semi-permanentes, após diafanização com hipoclorito de sódio a 20%. Utilizou-se como meio de montagem glicerina 40% (DOP e GAUTIÉ, 1928) e como corantes o Azul de Toluidina (HADDAD, 1989) ou a Fucsina básica + Azul de Astra (ROESER, 1972). Em seguida, as lâminas foram lutadas com esmalte incolor e posteriormente fotografadas em fotomicroscópio OLYMPUS BX-40.

Para a determinação das proporções de tecidos em cada órgão, as amostras foram emblocadas em glicol metacrilato (GMA) JB-4 (Polysciences, Inc.), seguindo-se as recomendações do fabricante e de GUERREIRO (1995). Posteriormente, foram seccionadas transversalmente em micrótomo rotatório SPENCER 820, distendidas em água e coradas com solução aquosa de Fucsina básica 0,0125% e Azul de Astra 1,0 % (ALVES DE BRITO e ALQUINI, 1996). Uma vez efetuada a dupla coloração, as lâminas foram lavadas em água corrente, secadas em estufa à 40°C, submetidas a meio de montagem convencional, utilizando-se Entellan e recobertas com lamínula.

Após a confecção do laminário, algumas secções representativas foram fotografadas em fotomicroscópio OLYMPUS BX-40 e as demais representadas por desenhos efetuados em microscópio de projeção BIOTEC/NIKKON e os diversos tecidos mensurados com auxílio de mesa digitalizadora DIGICOM modelo 1812, acoplada a microcomputador 486 DX-2 66 MHz, utilizando-se o sistema de planimetria SPLAN, desenvolvido pelo CINAG (Centro de Informática na Agricultura) da Faculdade de Ciências Agrônomicas, UNESP, Botucatu -SP, conforme metodologia adaptada por R. A. RODELLA (comunicação pessoal - não publicada).

As variáveis mensuradas foram basicamente separadas de acordo com a natureza das paredes celulares, resultando em:

**1- Porcentagem de tecido epidérmico** (excluindo-se tricomas e células buliformes);

**2- Porcentagem de tecido parenquimático** (na lâmina foliar incluindo as células buliformes e bainha parenquimática do feixe vascular (característica de síndrome Kranz, LAETSCH, 1974);

**3- Porcentagem de tecido vascular lignificado e esclerênquima** (engloba xilema, fibras, bainhas esclerenquimáticas e outras células presentes nos feixes vasculares que apresentem parede celular de natureza lignificada).

**4- Porcentagem de tecido vascular não lignificado** (basicamente constituído do floema e outras células presentes nos feixes vasculares que apresentem parede celular de natureza celulósica);

As células buliformes, apesar de pertencerem ao tecido epidérmico, apresentam uma grande parte de seu volume situado no mesofilo, e suas paredes, geralmente bem mais delgadas que as epidérmicas (CARO e SANCHES, 1969 *apud* VENTRELLA, 1995; ESAU, 1982), assemelhando-se muito às células do mesofilo e, por este motivo, estão incluídas na porcentagem de tecido parenquimático da lâmina foliar.

O aerênquima encontrado na bainha foliar, quando presente, foi mensurado e subtraído da área do mesofilo da bainha foliar.

Devido ao fato da mesa digitalizadora utilizada possuir uma área útil máxima de medição do tamanho A-3, a lâmina foliar foi subdividida, desenhando-se separadamente a região da quilha, que corresponde a região central da lâmina foliar, e limbo, que corresponde as asas (denominação proposta por METCALFE, 1960).

Na realização dos desenhos, foram adotados os seguintes padrões:

- **Para limbos foliares:** foi desenhado um intervalo que abrangesse 1 feixe de grande porte no centro, 1 médio e 2 pequenos de cada lado (Fig. 2-A);
- **Para bainhas foliares:** 2 grandes, 2 médios e os pequenos que estivessem eventualmente presentes (Fig. 2- B,C);
- **Para a região da quilha:** foi desenhado um intervalo que compreendesse 2 feixes de grande porte, 3 médios e 6 pequenos (Fig. 3-A);
- **Para caules:** devido à sua grande dimensão e variação entre as coletas e cultivares, as secções foram feitas com formato de "fatia de pizza", e suas projeções enquadradas em um retângulo com dimensões de 26 x 31 cm, onde a epiderme caulinar foi encostada à uma das faces menores do retângulo, e todas as estruturas que se apresentavam dentro do retângulo foram representadas (Fig. 3-B).

### 3.3 - Degradação de tecidos *in vitro*

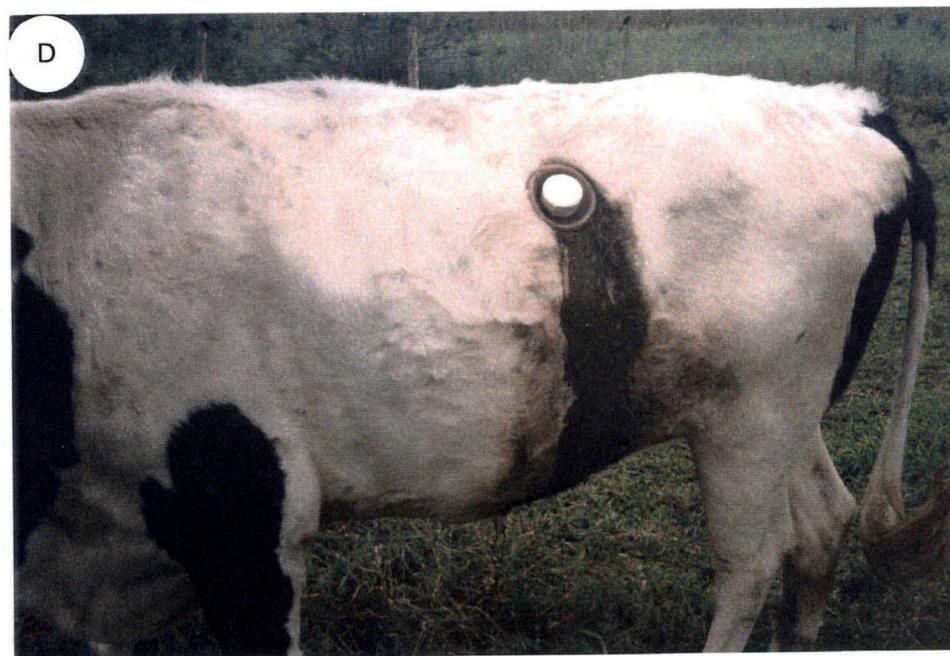
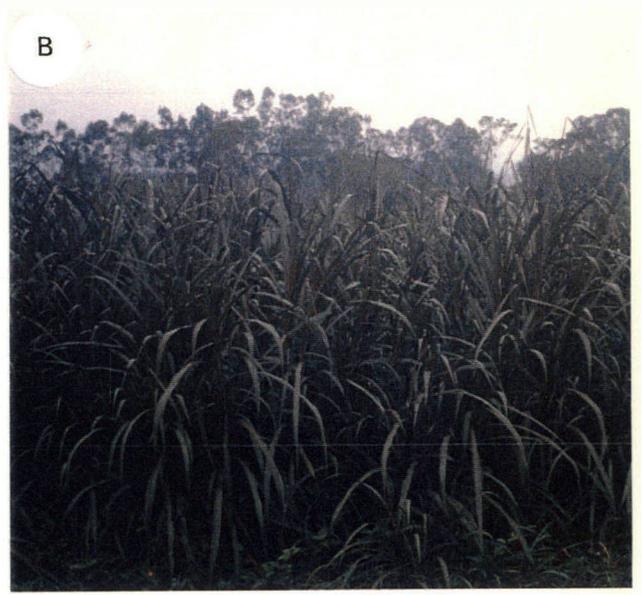
Para análise da degradação *in vitro*, primeiramente foi coletada uma pequena quantidade de líquido ruminal de bovinos adultos da raça holandesa, já fistulados (Fig. 1-D), filtrado em tecido fino e transportado até o laboratório em banho-maria a 39°C. Foram preparados tubos de ensaio contendo 6 ml de solução de McDougall (McDOUGALL, 1948) a 39°C, onde foram colocadas as frações em estudo (cerca de 20 porções de caule, bainha e lâmina foliar fragmentados em 0,1-0,2 cm). Nestes tubos de ensaio foram adicionados 4 ml de líquido ruminal diluído em solução de McDougall na proporção 1:1 e depositados sobre mesa agitadora em estufa controlada a 39° C. No decorrer das 6, 24 e 48 horas de incubação, retirou-se amostras do material incubado, as quais foram fixadas em glutaraldeído 3% com tampão fosfato por 4 dias, desidratadas em série alcoólica-etilica

10, 30, 50% e conservadas em álcool 70%, modificada a partir de AKIN *et al.* (1983) e AKIN *et al.* (1984).

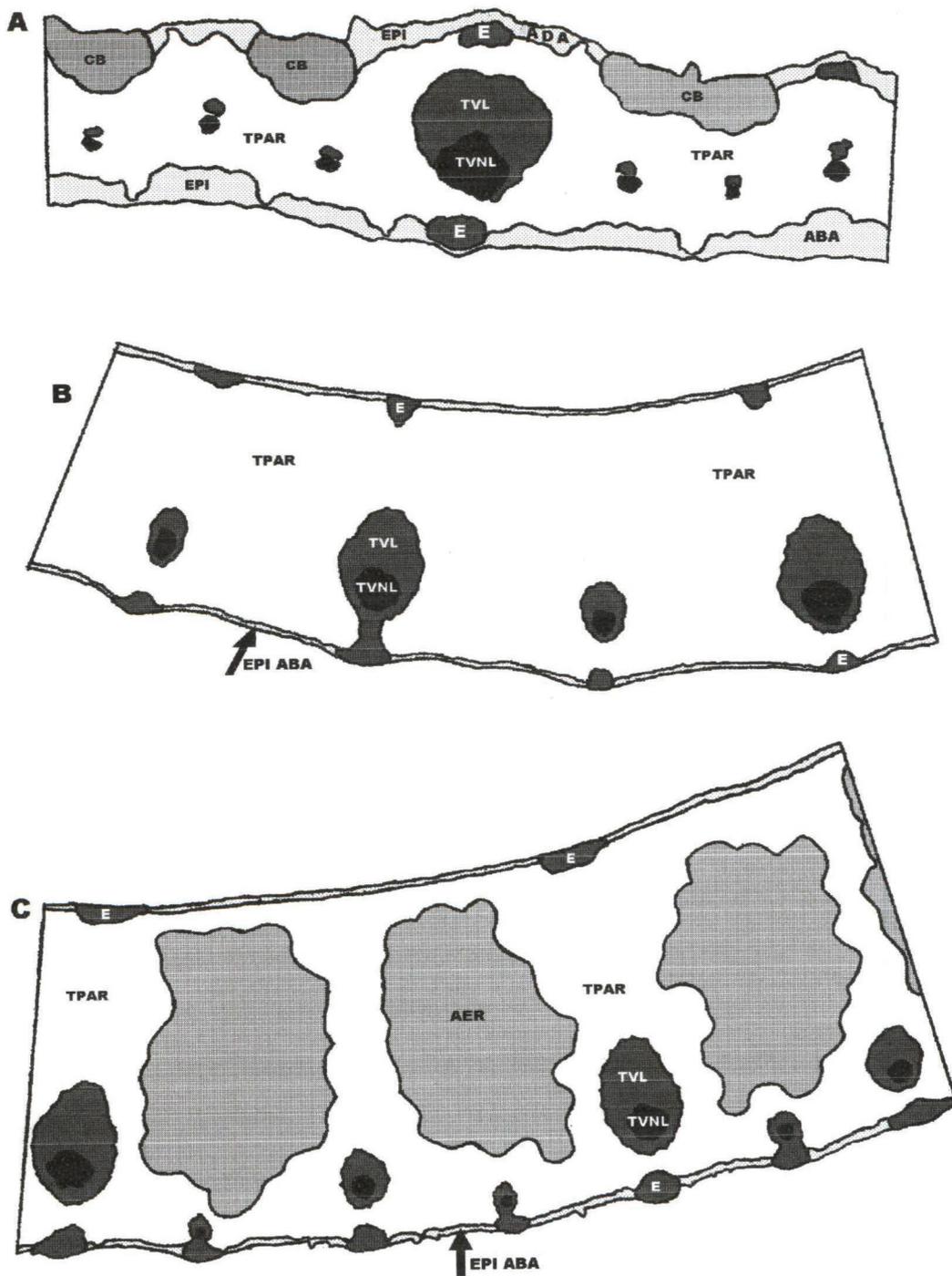
### 3.4 - Análise estatística

Devido a fragilidade das amostras digeridas durante seu manuseio ou total desestruturação durante o processo de digestão, das 5 repetições preparadas para a análise da degradação, apenas nas lâminas foliares houve material suficiente para embocamento de 2 repetições, ficando os demais órgãos com apenas uma amostragem ou nenhuma, principalmente no caule e nas incubações por períodos mais longos.

Os dados obtidos relativos à anatomia quantitativa do material *in natura*, avaliados em três épocas de coleta, foram submetidos à análise de variância e suas médias comparadas através do Teste de Duncan ao nível de 5%. Os valores em porcentagem foram transformados para  $\arcsen \frac{\sqrt{x}}{100}$ .



**Fig. 1-** A- Piquete de *P. purpureum* utilizado para pastoreio direto na EPAGRI; B- Parcela experimental do cv. roxo na EPAGRI; C- Detalhes dos cultivares Empasc 309 Areia (esq.), roxo (centro) e Empasc 309 Testa (dir.); D- Bovino fistulado utilizado para coleta do líquido ruminal.

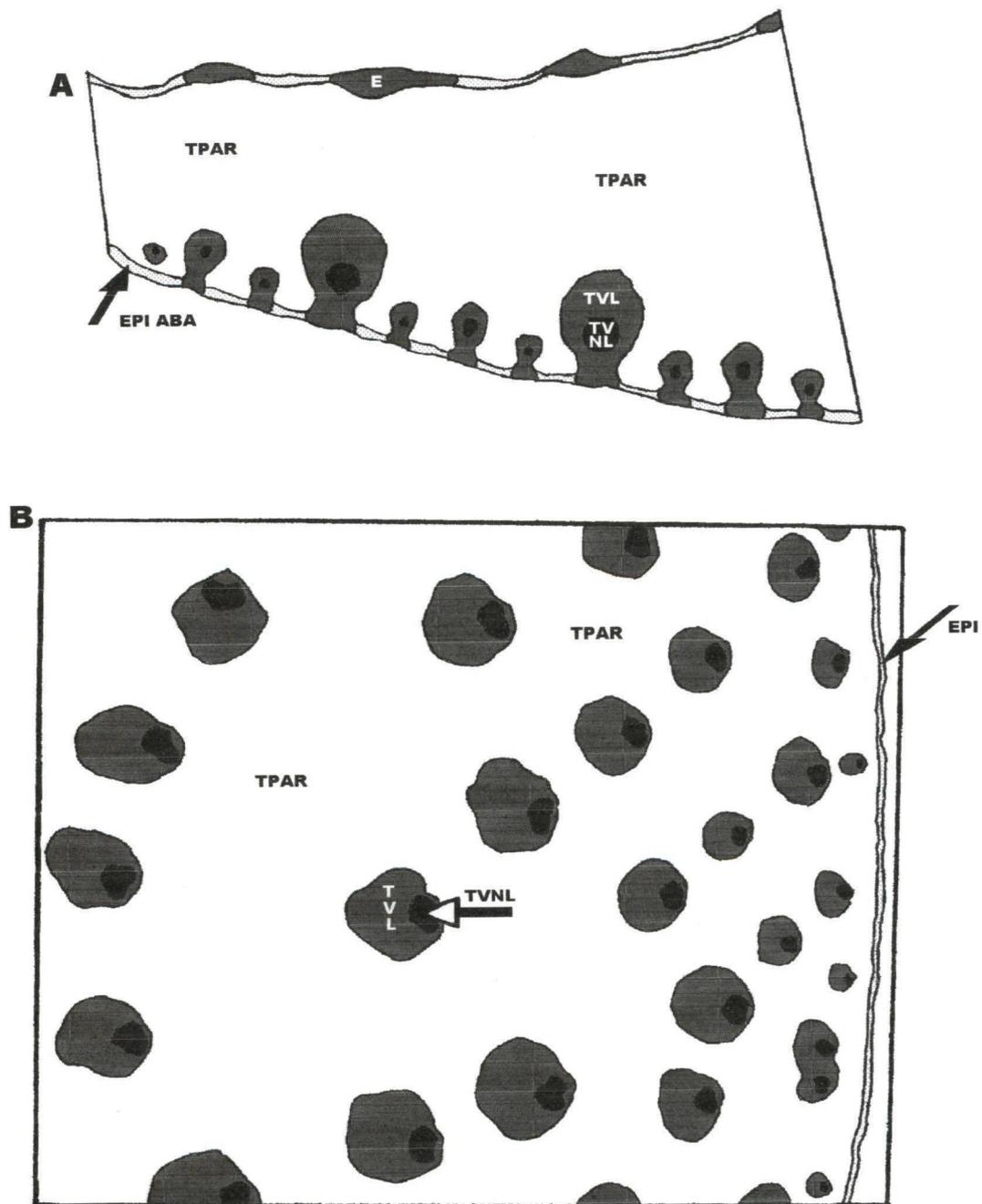


TPAR= Tec. parenquimático  
 TVNL= Tec. vasc. não lignif.  
 EPI= Epiderme

CB= Céls. buliformes  
 E= Tec. esclerenquimático  
 ADA= Face adaxial

TVL= Tec. vasc. lignif.  
 AER= Aerênquima  
 ABA= Face abaxial

**Fig. 2.** Desenhos esquemáticos de *P. purpureum*. **A-** Limbo foliar; **B-** Bainha foliar na primeira coleta, sem a presença de aerênquima; **C-** Bainha foliar da segunda coleta, com o aerênquima já formado.



TPAR= Tec. parenquimático  
 E= Tec. esclerenquimático

TVL= Tec. vasc. lignif.  
 EPI= Epiderme

TVNL= Tec. vasc. não lignif.  
 ABA= Face abaxial

Fig. 3. Desenhos esquemáticos de *Pennisetum purpureum*. A- Região da quilha foliar; B- Caule.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 - Características Morfológicas

*Pennisetum purpureum* é planta perene, adventícia, ereta, até 4 m de altura, cespitosa, colmos cilíndricos, cheios e glabros. Suas raízes são grossas e rizomatosas. As folhas possuem lâminas lineares, alternas, planas, 0,3-1,20 m de comprimento, 4-40 mm de largura; bainhas estriadas e lanosas, de coloração esverdeada ou roxa; lígula breve, brancacenta, ciliada. Inflorescência terminal, ereta, cilíndrica, densa, 70-300 mm de comprimento, 15-30 mm de espessura, de coloração amarelada, castanho ou às vezes roxa; espiguetas lanceoladas, acuminadas, 5-7 mm de comprimento (adaptado a partir de HÄFLIGER e SCHOLZ, 1980; PUPO, 1980; SMITH *et al.*, 1982; ALCÂNTARA e BUFFARAH, 1992).

O florescimento da espécie, no local de coleta, ocorre no final do inverno, geralmente no mês de agosto.

As características morfológicas de *P. purpureum* diferem significativamente entre os cultivares estudados, como observa-se na Tabela 1.

Um aspecto fenotípico marcante diz respeito à coloração do cultivar Roxo, onde todos os órgãos aéreos da planta possuem tal coloração característica, inclusive a inflorescência.

Quanto à altura das plantas, o cultivar Roxo apresenta-se, na segunda e terceira coleta, mais alto que os demais, estando os cv. EMPASC 309 Areia e EMPASC 307 Testo sem diferença significativa (Tabela 1). Notar que o cultivar EMPASC 307 Testo, na primeira coleta, apresentou um porte bem maior que os demais, e que esta superioridade não se manteve nas demais coletas. Por outro lado, os órgãos que

aparentemente menos se alteraram com o envelhecimento do vegetal foram a bainha e a lâmina foliar.

Observou-se em todos os cultivares um aumento muito elevado no comprimento dos entrenós à medida que o vegetal envelheceu, estando este aumento acompanhado da elevação do porte do indivíduo.

TABELA 1 - Variação da altura da planta, comprimento da lâmina e da bainha foliar, e do comprimento do caule (entrenós), em relação à idade da planta \*. (em cm)

| Coleta           | 14/12/94 (Coleta 1) |             |             |            | 11/01/95 (Coleta 2) |             |             |            | 08/03/95 (Coleta 3) |             |             |            |
|------------------|---------------------|-------------|-------------|------------|---------------------|-------------|-------------|------------|---------------------|-------------|-------------|------------|
|                  | altura planta       | comp lamina | comp bainha | comp caule | altura planta       | comp lamina | comp bainha | comp caule | altura planta       | comp lamina | comp bainha | comp caule |
| EMPASC 307 Testo | 99.0 a              | 98.6 a      | 19.7 a      | 0.54 b     | 174 b               | 100 a       | 22.2 b      | 8.9 c      | 245 b               | 111 b       | 20.8 a      | 9.3 b      |
| Roxo             | 64.8 b              | 93.4 b      | 16.6 b      | 0.54 b     | 197 a               | 103 a       | 25.3 a      | 10.7 b     | 283 a               | 114 a       | 21.2 a      | 9.7 b      |
| EMPASC 309 Areia | 47.0 c              | 77.8 c      | 18.7 a      | 2.3 a      | 172 b               | 78 b        | 19.6 c      | 12.9 a     | 245 b               | 86.8 c      | 16.3 b      | 11.6 a     |

\* Valores médios de 5 repetições. Letras diferentes na mesma coluna representam dados significativamente diferentes. Teste de Duncan,  $p < 0,05$ .

TCACENCO e LANGE (1992) e TCACENCO e BOTREL (1994), efetuaram a caracterização de nove cultivares de capim-elefante, observando caracteres vegetativos e reprodutivos, inclusive de dois cultivares presentes neste trabalho, os cv. EMPASC 309 Areia e EMPASC 307 Testo. Tendo observado 25 e 23 caracteres reprodutivos, respectivamente, tais como, comprimento e diâmetro do colmo e da inflorescência, número de afilhos, comprimento e largura da lâmina, bainha foliar, e cor da inflorescência, os autores constataram uma boa distinção entre estes dois cultivares, tendo o cv. EMPASC 307 Testo dimensões gerais superiores a todos os demais. Em todos os cultivares, houve

uma alta variabilidade dentro de cada grupo, o que pode indicar altas taxas de reprodução sexuada com intercruzamento de ecotipos ou de cultivares distintos.

Em nossas mensurações, não houve a distinção entre os cultivares EMPASC 309 Areia e EMPASC 307 Testa, como encontrada no experimento de TCACENCO e LANGE (1992) e TCACENCO e BOTREL (1994). Pelo contrário, estes dois cultivares apresentaram-se bem semelhantes, com exceção à primeira coleta, onde diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) quanto à altura da planta e comprimento da lâmina foliar, permanecendo o cultivar Roxo com valores diferenciados ( $p < 0,05$ ) dos demais cultivares em todas as coletas; sendo que tal cultivar não foi estudado no trabalho destes autores. Parte dessas diferenças pode estar associada ao número de observações feitas para cada cultivar, já que os autores citados trabalharam com 27 indivíduos, enquanto em nosso trabalho observamos 5 indivíduos. Mesmo assim, os autores observaram grande variabilidade dentro de cada cultivar, o que não aconteceu em nossas amostragens. Cabe ressaltar também que nosso interesse era apenas caracterizar os cultivares quanto à altura, comprimento da lâmina e da bainha foliar e diâmetro do caule, enquanto os autores mensuraram mais de 20 e 23 caracteres.

## 4.2- Características Anatômicas

### 4.2.1- Bainha Foliar

A bainha foliar de *P. purpureum* apresenta em secção transversal aspecto semicircular, onde as margens ficam parcialmente sobrepostas, envolvendo todo o caule.

Como a maioria das Liliopsidas, e em especial as Poaceae, as folhas e bainhas foliares de *P. purpureum* apresentam venação paralela, com pequenos feixes transversais que interconectam-se aos longitudinais, da mesma forma como descrito por GIFFORD e FOSTER (1989) e MAUSETH (1995).

Em vista frontal, a epiderme da face adaxial revela células retangulares, formando uma superfície bastante uniforme (Fig. 4-A). É desprovida de tricomas, já que está totalmente adnata ao caule, mas mesmo assim, alguns complexos estomáticos estão presentes (Fig.4-B). Em 1971, MILBY descreveu para a espécie *Buchloë dactyloides* (capim-búfalo) a presença de epiderme da bainha foliar com características muito semelhantes à do capim-elefante, porém não tendo citado a presença de complexos estomáticos.

Em vista frontal, as células oclusivas do complexo estomático de *P. purpureum* são alargadas e em forma de osso ou halteres (Fig. 4-B), da mesma forma como descrito por FAHN (1974) e DAHLGREN *et al.* (1985) para gramíneas em geral. Os extremos das células oclusivas são dilatados, bulbosos e de paredes finas, enquanto as porções medianas são alargadas, de parede espessa e de lume estreito. As células oclusivas são acompanhadas lateralmente por duas células anexas, uma de cada lado das células oclusivas, de forma triangular (Fig. 5-A), idênticas às observadas por HAYWARD (1953), MILBY (1971), SHAW e SMEINS (1981), THOMPSON e ESTES (1986) e DÁVILA e CLARK (1990).

Boa parte do autores são unânimes em afirmar que as Poaceae possuem um tipo de complexo estomático característico, porém sem fazer menção à uma classificação mais diferencial. Entretanto, FAHN (1974), remete à obra de STEBBINS e KHUSH (1961), os quais subdividiram os complexos estomáticos das Liliopsidas de acordo com o número de células anexas que os rodeiam, sem fornecerem uma terminologia própria para cada tipo. Em 1985, DAHLGREN *et al.* os descreveram como "paracíticos do Tipo Gramineae". Seguindo-se a classificação citada por FAHN (1974) e observando-se os complexos estomáticos de *P. purpureum*, estes estão rodeados por duas células anexas, uma de cada lado das células oclusivas, sendo que este tipo é comum, segundo o autor, "entre as Cyperales, Iridales, Juncuales, Graminales e outras".

Secções transversais deste órgão, revelam nesta face, células achatadas, podendo haver uma fina deposição de lignina nas paredes periclinais externas, bem como a presença de uma cutícula recobrimdo as células epidérmicas. (Fig. 5-B).

Observa-se que a secção transversal da bainha foliar não revela uma quilha, como a lâmina foliar, porém apresenta a região central da bainha mais alargada, conforme descreveu MILBY (1971).

Logo abaixo, em nível dos feixes vasculares, existe uma pequena calota esclerenquimática sub-epidérmica, geralmente constituída por somente 1 ou 2 camadas de células (Fig. 5-D).

No mesofilo, o parênquima encontra-se desprovido de cloroplastídeos. Suas células são poliédricas, grandes, de paredes delgadas, que aumentam de tamanho à medida que se aproximam da região central, onde se faz presente o aerênquima. Tal aerênquima é originado pela lise de células parenquimáticas do mesofilo, formando lacunas paralelas entre as nervuras (Fig. 5-D). Da mesma forma, SHARMA e MEHRA (1972) encontraram uma lacuna lisígena entre os feixes vasculares de algumas espécies

do gênero *Fimbristylis* (Cyperaceae), e condicionaram sua presença na bainha foliar a sua ausência na lâmina foliar.

Quanto à função do aerênquima, MAUSETH (1988), o relacionou com a diminuição do peso da folha e maior concentração e circulação de gases, principalmente o CO<sub>2</sub>. O aparecimento e tamanho deste aerênquima, em todos os cultivares de *P. purpureum* estudados, está relacionado com a idade do órgão, da mesma forma como constatado por WILKINS (1972), sendo que na primeira coleta, todo o mesofilo era preenchido por células parenquimáticas. Não há diferenciação entre parênquima clorofiliano paliçádico e lacunoso, formando assim, um mesofilo do tipo homogêneo (Fig. 5-D).

Os feixes líbero-lenhosos encontram-se mais próximos da face abaxial, havendo uma bainha de células esclerificadas e, dependendo do porte do feixe, uma extensão de bainha do feixe que invade a epiderme desta face (Fig.5-D). Nenhuma camada de células mesofílicas rodeia os feixes, como ocorre na lâmina foliar, sendo a bainha foliar de *P. purpureum* semelhante à de *Buchloë dactyloides* descrita por MILBY (1971).

Na bainha foliar ocorre a presença de feixes líbero-lenhosos agrupados basicamente em três tamanhos.

Os de grande porte apresentam-se com formato ovalado em secção transversal, e possuem todas as suas estruturas bem nítidas. No xilema se pode evidenciar metaxilema e protoxilema, sendo que nos feixes mais desenvolvidos, o protoxilema já se tornou inativo, restando apenas sua lacuna. Envolvendo todo o feixe, existe a bainha do feixe vascular, constituída de células com avançado espessamento parietal. Ocorre ainda a formação de uma extensão de bainha do feixe, a qual está constituída por fibras, que segundo MAUSETH (1988), estão relacionadas com o suporte

da folha. Tal extensão, quase sempre invade a epiderme da face abaxial (Fig. 5-D), assim como constatado por BUVAT (1989).

Os feixes de médio porte, são mais circulares em secção transversal. Neles é possível se distinguir o floema do xilema, porém os elementos traqueais do xilema ainda não são diferenciáveis. Este feixes estão totalmente envolvidos por uma bainha de feixe, que possui um leve espessamento parietal. Nestes feixes, não ocorre a presença de extensão de bainha, havendo apenas uma calota esclerenquimática sub-epidérmica em nível de cada feixe, que posteriormente irá se unir a ele.

Os feixes de menor porte assemelham-se aos de médio porte quanto ao formato. Nestes feixes, não é possível distinguir-se com nitidez o xilema do floema, podendo-se notar somente um leve diferencial de coloração, quando esta é efetuada com dupla coloração. Os feixes deste porte também são envolvidos por uma bainha do feixe, porém com paredes muito pouco espessadas. Assim como nos de médio porte, não existe a extensão de bainha do feixe, mas, às vezes, já se pode visualizar uma calota esclerenquimática sub-epidérmica, porém muito reduzida.

Todos os feixes dispõem-se lado a lado, paralelamente, estando um de médio porte localizado entre dois de grande porte, e um de pequeno porte entre um de grande e um de médio porte (Fig.5-D). Estes feixes de pequeno porte muitas vezes não são identificados, por estarem em formação.

Podem ser detectados feixes perpendiculares aos demais, muito finos (Fig. 5-D), denominados por ESAU (1974) como feixes anastomosantes e que, segundo HAYWARD (1953), são constituídos por poucos ou somente um elemento xilemático que podem ou não estar acompanhados por floema.

As células epidérmicas da face abaxial, em secção transversal, são poliédricas, com paredes periclinais externas recobertas por uma espessa cutícula, que se

pronuncia à medida que a bainha se libera das que a recobrem, entrando em contato com o ambiente, assim como constado por WILSON (1993).

Em vista frontal, a face abaxial revela células epidérmicas longas com paredes anticlinais sinuosas, células curtas sobre as nervuras, contendo corpos silicosos (Fig. 4-E). Na superfície são evidenciados abundantes complexos estomáticos em fileiras paralelas às nervuras, longos tricomas tectores unicelulares (Fig. 4-C), tricomas bicelulares uniseriados (Fig. 4-E) e tricomas em forma de gancho ("hooks") (Fig. 4-D) conforme descrito por SHAW e SMEINS (1981) e DÁVILA e CLARK (1990), ocupando quase todos os espaços intercostais (entre as nervuras). Também se apresentam projeções, formadas pela sinuosidade das paredes das células longas, que são mais evidentes na lâmina foliar.

#### 4.2.2- Região do Limbo Foliar

A superfície da epiderme da face adaxial do limbo, em vista frontal, apresenta células com paredes anticlinais curtas e periclinais longas, conhecidas como células longas. As paredes periclinais destas células são fortemente sinuosas (Fig. 5-A), e WILSON (1993) refere-se a esta característica como um problema à digestibilidade. Sobre as nervuras, entre estas células longas, situam-se as células curtas, que são de dois tipos: células silicosas e células suberosas (Fig. 5-A). Vários autores, tais como METCALFE (1960), MILBY (1971), ESAU (1972 e 1974), SHARMA e MEHRA (1972), FAHN (1974), SHAW e SMEINS (1981), DAHLGREN *et al.* (1985), BUVAT (1989), DÁVILA e CLARK (1990) e WILSON (1993) descreveram para inúmeras outras gramíneas esta epiderme característica. METCALFE (1960) e DAHLGREN *et al.* (1985), apresentam uma classificação destes corpos silicosos de acordo com o seu formato, sendo que o primeiro autor enquadra os do gênero *Pennisetum* como intermediários entre forma de cruz e forma de cela de montar. Já o segundo autor, descreve o formato de cela de montar para o

Grupo *Panicum*, no qual o autor também enquadra o *P. purpureum*. O que pode-se constatar na Fig. 5-A, é que os corpos silicosos são do mesmo formato intermediário entre cela de montar e cruz, como descrito por METCALFE (1960).

Segundo FAHN (1974), as células silicosas contém corpos silicosos de diferentes formatos, e as paredes celulares das células suberosas são impregnadas por suberina e em seu conteúdo podem acumular substâncias ergásticas.

Longos tricomas tectores unicelulares encontram-se dispersos nas regiões intercostais do limbo, bem como tricomas bicelulares uniseriados e tricomas em forma de gancho. Tricomas pontiagudos ("prickle-hair") são encontrados sobre as nervuras (Fig. 7-B), da mesma forma como os observados por METCALFE (1960) e MILBY (1971). Os tricomas em forma de gancho e os pontiagudos são semelhantes, porém os pontiagudos são maiores e localizam-se principalmente sobre as nervuras, enquanto os outros estão dispersos nas regiões intercostais.

No presente estudo observamos que a presença dos longos tricomas encontrados na face adaxial varia entre os cultivares, sendo mais abundantes no cultivar EMPASC 309 Areia, e praticamente ausentes no cultivar EMPASC 307 Testa.

Na face adaxial, em vista frontal constata-se a presença de complexos estomáticos dispostos em fileiras únicas e pareados às nervuras (Fig. 7-A e B), da mesma forma que descrito por HAYWARD (1953), METCALFE (1960) e ESAU (1972). Ocorrem complexos estomáticos em ambas as faces da lâmina foliar, com maior predominância na face abaxial (Fig. 7-A-B e C-D), caracterizando esta folha como anfihipoestomática, terminologia adotada por NAPP-ZINN (1973 e 1974).

Em secção transversal, constata-se que toda a superfície epidérmica da face adaxial está fortemente recoberta por uma cutícula espessa (Fig. 5-E).

Em *P. purpureum*, assim como em quase todas as gramíneas, a epiderme da face adaxial, em secção transversal, apresenta células buliformes dispostas nas

regiões intercostais entre os feixes de grande porte (Fig. 5-E). Estas células são maiores que as epidérmicas típicas, apresentando paredes delgadas e segundo FAHN (1974), um grande vacúolo. A função destas células está relacionada tanto com o enrolamento da folha em situações de déficit hídrico, quanto com a expansão da folha a partir da gema (FAHN, 1974; MAUSETH, 1988). METCALFE (1960) cita que as paredes periclinais externas das células buliformes podem estar, freqüentemente, cutinizadas e engrossadas, o que observa-se também em *P. purpureum* (Fig. 5-E).

O mesofilo é composto de um parênquima clorofiliano, com poucos e pequenos espaços intercelulares; não havendo diferenciação entre parênquima clorofiliano paliçádico e lacunoso, formando um mesofilo homogêneo (Fig. 5-E), assim como descrito para folhas de Liliopsidas em geral (ESAU, 1972 e 1974; FAHN, 1974; CUTTER, 1986-87 e MAUSETH, 1988 e 1995).

Amplamente mencionado por autores como METCALFE (1960), MILBY (1971), ESAU (1972 e 1974), FAHN (1974), LAETSCH (1974), BROWN (1975), DAHLGREN *et al.* (1985), DENGLER *et al.* (1985), MAUSETH (1988 e 1995), SALISBURY e ROSS (1992), WILSON (1993), as gramíneas tropicais, como *P. purpureum*, possuem a chamada síndrome Kranz. Nesta síndrome Kranz, o parênquima clorofiliano do mesofilo possui células organizadas radialmente ao redor dos feixes, em forma de coroa, quando em secção transversal, apresentando grande número de cloroplastídeos (Fig. 6-A-D). Internamente a esta camada de células mesofílicas, encontra-se a bainha do feixe vascular, cujas células possuem um ligeiro espessamento de parede (Fig. 6-A-D). Esta bainha parenquimática pode ser simples ou dupla. Nesta última, ocorre mais internamente a bainha de mestoma, que em *P. purpureum* é descontínua e discreta, da mesma forma como METCALFE (1960) citou quando da descrição anatômica do gênero *Pennisetum*. Esta bainha mestomática está restrita à região do protoxilema, formando um arco sobre ele (Fig. 6-D). Em 1973, OLIVEIRA *et al.* realizaram um trabalho sobre a síndrome Kranz

associada à via fotossintética  $C_4$  com inúmeras gramíneas tropicais, e observaram algumas variações nesta estrutura, subdividindo-a em diferentes tipos. No caso da espécie *P. purpureum*, esta variação a inclui no tipo roseta fechada, já que a bainha parenquimática é circular e contínua ao redor do feixe, quando observada em secção transversal, não havendo interrupções.

A presença desta anatomia característica é comum a várias outras gramíneas tropicais e que também pode estar presente em algumas Magnoliopsidas, geralmente está associada a via fotossintética  $C_4$ , que lhe confere maior capacidade de utilização da luz e da água, e por conseqüência, de fixação de  $CO_2$  do que as espécies de clima temperado. Devido a essa via fotossintética, que permite fotossíntese com complexos estomáticos mais fechados, a eficiência no uso da água e a transpiração relativa são duas vezes maiores nas gramíneas tropicais do que nas temperadas (DOWNES, 1970; SALISBURY e ROSS, 1992).

Na lâmina foliar, assim como na bainha foliar, ocorre a presença de feixes líbero-lenhosos agrupados em três tamanhos.

Os feixes de grande porte (Fig. 6-A), apresentam-se com formato ovalado em secção transversal, e possuem todas as suas estruturas bem nítidas. No xilema se pode observar com clareza o metaxilema e o protoxilema, sendo que o protoxilema já se tornou inativo, restando apenas sua lacuna. Envolvendo todo o feixe, existe a bainha do feixe vascular (síndrome Kranz) constituída de uma camada externa, a bainha parenquimática (BP) (Fig. 6-A), contínua, cujas células apresentam paredes ligeiramente espessadas, e em seu citoplasma, cloroplastídeos em disposição centrífuga; e uma camada mais interna, a bainha de mestoma (BM) (Fig. 6-D), descontínua e restrita à região do protoxilema, em forma de "arco", cujas células possuem as paredes bem espessadas. Nos feixes de grande porte, ocorre a formação de uma extensão de bainha do feixe que invade a epiderme da face abaxial.

Os feixes de médio porte (Fig. 6-B), são circulares em secção transversal. É possível se distinguir o floema do xilema, porém os elementos traqueais do xilema ainda não são diferenciáveis. Estes feixes estão totalmente envoltos pela bainha parenquimática, sendo suas células bem desenvolvidas e a bainha de mestoma também visível, da mesma forma que aparecem nos feixes de grande porte, e mais externamente, uma camada radiada de células mesofílicas. Nestes feixes, ocorre no lado adaxial uma calota sub-epidérmica de células esclerenquimáticas de diferentes tamanhos, conforme o estágio de desenvolvimento do feixe.

Os feixes de menor porte (Fig. 6-C) assemelham-se aos de médio porte, quanto ao formato. Nestes feixes, não é possível se distinguir com segurança o xilema do floema. Nos feixes de pequeno porte, existem apenas duas calotas sub-epidérmicas de células esclerenquimáticas, uma de cada lado do feixe líbero-lenhoso. Entre elas e o feixe, encontramos uma camada composta por duas ou três células parenquimáticas. Os feixes deste porte também são envoltos pela bainha parenquimática e pelo mesofilo radiado.

Todos os feixes dispõem-se lado a lado, paralelamente, estando dois feixes de médio porte dispostos entre dois de grande porte, e dois de pequeno porte em cada intervalo deste (Fig. 5-E).

Em secção transversal, revela uma espessa cutícula recobrendo as células epidérmicas (Fig. 5-A e D), sendo esta deposição mais evidente na face abaxial do que na adaxial, estando esta disposição de acordo com o que inúmeros autores descrevem para as Liliopsidas e HAYWARD (1953) descreveu para a espécie *Zea mays*.

Em vista frontal, as células epidérmicas longas da face abaxial possuem as paredes anticlinais com contorno sinuoso, do mesmo modo que àquelas da face adaxial. Na região sobre as nervuras, encontram-se células curtas entre as longas, com corpos silicosos. Esta superfície é desprovida de longos tricomas (Fig. 7-C e D). Entretanto, encontram-se tricomas bicelulares, tricomas em forma de gancho nas regiões intercostais

(Fig. 7-D), e tricomas pontiagudos sobre as nervuras. Encontrou-se maior número de complexos estomáticos, localizados em fileiras únicas internervurais (Fig. 7-C e D) e fileiras duplas no cultivar EMPASC 307 Testa. O cultivar EMPASC 309 Areia apresenta a epiderme totalmente diferenciada das demais, com grandes projeções de cutícula.

O fato das paredes anticlinais das células epidérmicas apresentarem contorno sinuoso, provoca a formação de protuberâncias na união das células, conforme pode-se observar nas Fig. 7-A e D.

#### **4.2.3 - Região da Quilha Foliar**

Na região da lâmina foliar, onde se encontra a nervura central, há a formação de uma saliência denominada de quilha (METCALFE, 1960), a qual pode ser parcialmente visualizada na Fig. 8-A.

Em vista frontal, na face adaxial, observamos abundantes tricomas bicelulares, tricomas pontiagudos e em forma de gancho. Como no limbo, encontram-se também células longas, e sobre as nervuras, células curtas com corpos silicosos.

As células epidérmicas da face adaxial observadas em secção transversal são poliédricas, de pequeno tamanho, e devido à proximidade entre as calotas esclerenquimáticas, são fortemente lignificadas. Nesta secção também ocorre a presença de conjuntos sub-epidérmicos de fibras, as calotas esclerenquimáticas, em oposição aos feixes, porém, devido à espessura da quilha, bem distantes destes (Fig.8-A).

O mesofilo é constituído de células clorênquimáticas poliédricas, de grande tamanho e paredes delgadas (Fig.8-A). Já as células do centro da quilha são maiores e possuem um leve espessamento de parede. Quando visualizamos a quilha em secção transversal, o parênquima clorofiliano próximo aos feixes líbero-lenhosos possui a mesma

disposição radiada em forma de coroa, (Fig. 6-D), apresentando as mesmas características descritas para a região do limbo no que diz respeito à síndrome Kranz.

Em toda a lâmina foliar ocorre a presença de feixes líbero-lenhosos agrupados em três tamanhos, assim como já descrito para a região do limbo, estando todos dispostos na face abaxial da quilha. Os de grande e médio porte possuem uma extensão de bainha do feixe que invade totalmente a epiderme da face abaxial (Fig. 6-D).

Em secção transversal, as células epidérmicas da face abaxial são recobertas por uma espessa cutícula e são fortemente lignificadas (Fig. 6-D e 8-A).

A epiderme da face abaxial é muito semelhante a da face adaxial, no que diz respeito aos tricomas, células longas e curtas, e contorno sinuoso das paredes anticlinais das células longas.

#### 4.2.4 - Caule

O caule de *P. purpureum* é do tipo colmo cheio, de contorno externo circular ou ovalado quando observado em secção transversal, com diâmetro variando entre 0,9 e 1,5 cm, dependendo do cultivar. A dimensão dos internós é de aproximadamente 20 cm, totalmente envoltos pela bainha foliar.

Em secção transversal, as células epidérmicas possuem formato tetraédrico, paredes anticlinais e periclinais lignificadas e são recobertas externamente por uma cutícula (Fig. 8-C).

A partir de secções transversais, foram visualizados complexos estomáticos no tecido epidérmico do caule.

Pode estar presente uma camada de células lignificadas, sub-epidérmica, com 2 a 3 estratos de células de espessura, que acompanha toda a circunferência do caule formando um anel. A presença deste anel se torna mais evidente com o envelhecimento do

material, ocorrendo o espessamento parietal de suas células (Fig.8-C). METACALFE (1960), também descreve tal anel para as espécies de *Pennisetum* por ele observadas.

Após este anel, encontra-se o parênquima fundamental, de células poliédricas, com grandes espaços intercelulares, os quais aumentam de tamanho gradativamente à medida que se aproximam da região central deste órgão. Estas células apresentam vários gradientes de lignificação parietal, onde estão imersos a maioria dos feixes líbero-lenhosos. Na região central do colmo, encontram-se células parenquimáticas, com paredes finas, de natureza celulósica, onde estão dispostos os feixes líbero-lenhosos mais velhos (Fig.8-B).

Os feixes do tipo líbero-lenhosos apresentam contorno circular, estando o floema voltado para a periferia do caule e o xilema em oposição. Estes feixes estão envoltos por uma bainha esclerenquimática, da mesma forma como descrito por HAYWARD (1953) e ESAU (1972), sendo esta bainha de formato ovalado, mais desenvolvida no sentido interno do caule e menos no sentido da periferia (Fig.8-C).

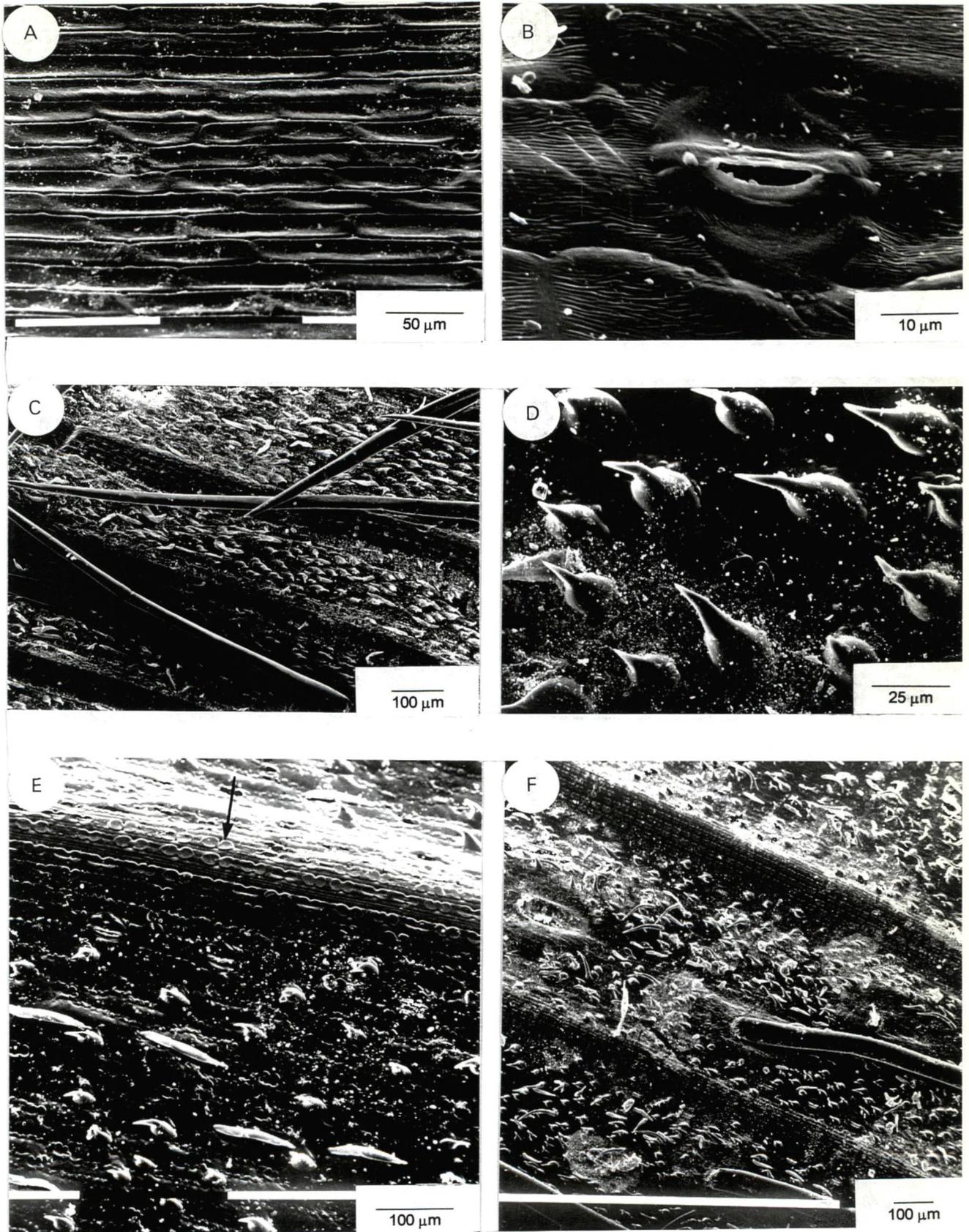
No xilema dos feixes líbero-lenhosos do caule de *P. purpureum*, em adição aos elementos traqueais, geralmente existe uma grande proporção de parênquima xilemático e tecido mecânico na forma de fibras xilemáticas, do mesmo modo como descrito por MAUSETH (1995). Quando os feixes estão desenvolvidos, o parênquima que rodeia o protoxilema sofre uma destruição parcial, formando a lacuna do protoxilema.

O floema possui uma pequena quantidade de protofloema e no metafloema as células companheiras e os elementos de tubo crivado estão regularmente dispostos. Quando adultos, o protofloema forma uma estreita camada de células comprimidas imediatamente por fora do metafloema, da mesma forma como observado em *Zea mays* por HAYWARD (1953) e descrito por ESAU (1974).

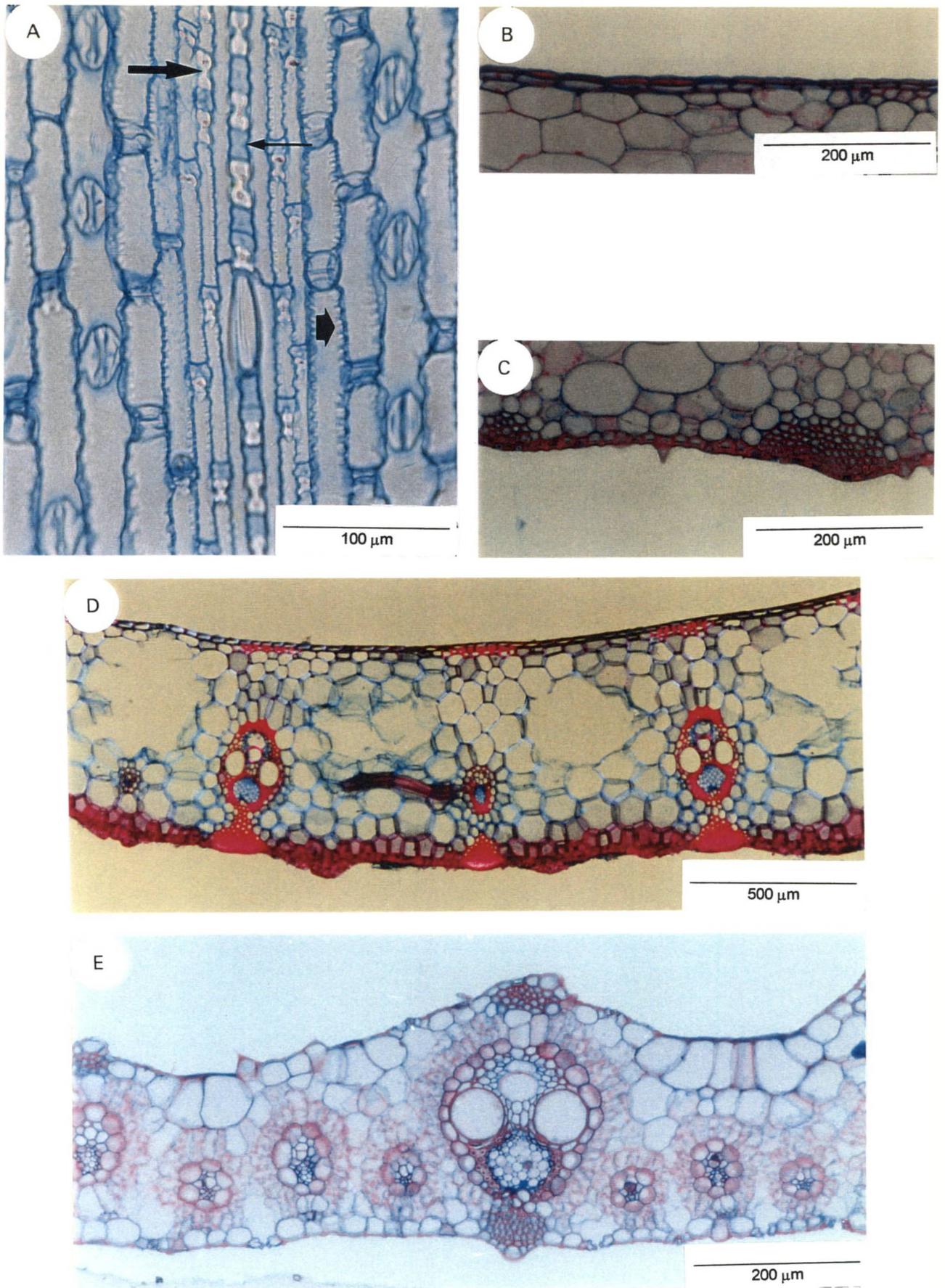
Quando *P. purpureum* encontra-se em seu estágio inicial de crescimento (primeira coleta), a secção transversal do caule revela uma disposição desorganizada dos

feixes líbero-lenhosos, havendo feixes de transição, bem como grupos dispersos de elementos xilêmáticos e floemáticos em diversas orientações. O mesmo detalhe foi observado por HAYWARD (1953) em *Zea mays*.

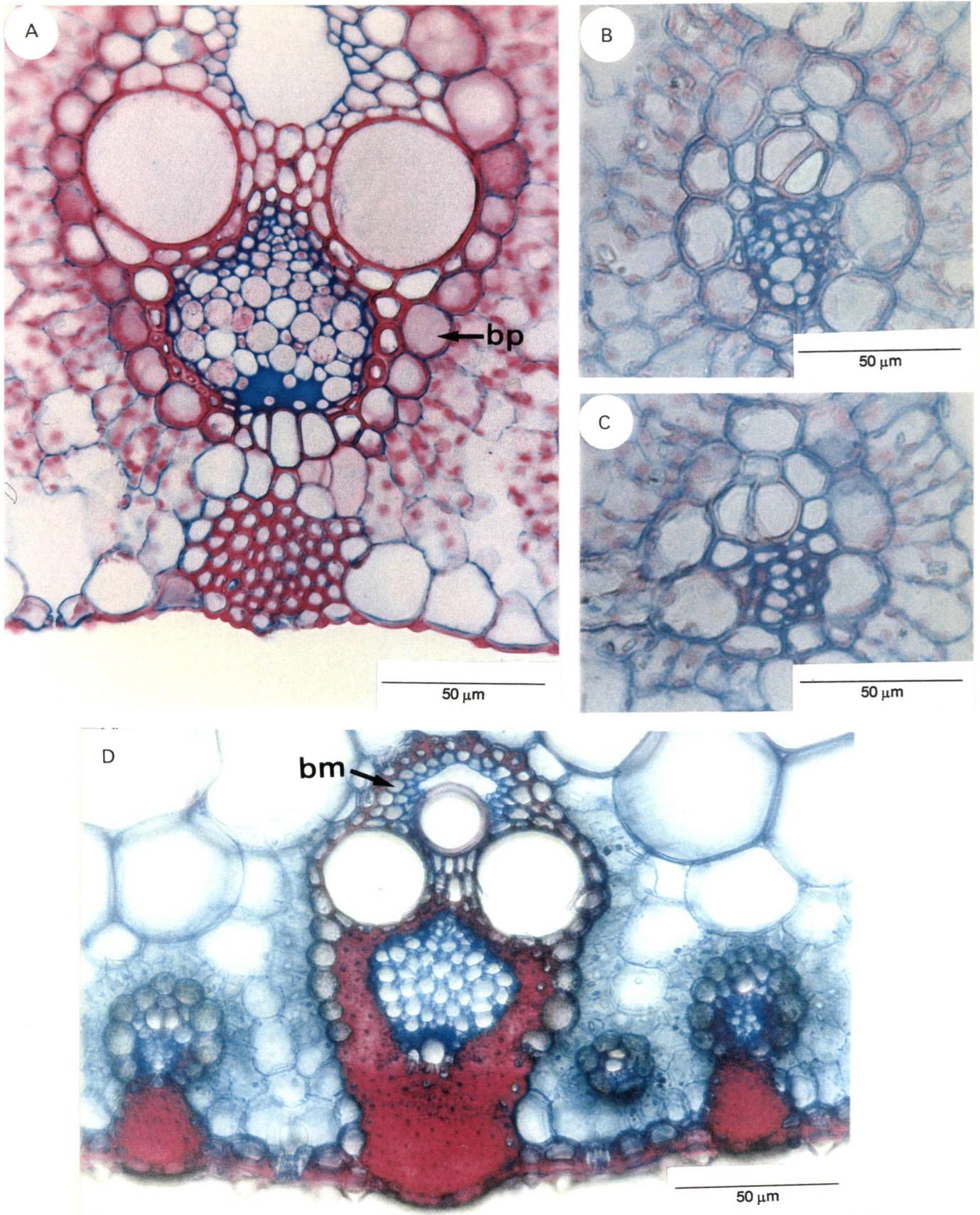
Os feixes líbero-lenhosos estão irregularmente dispersos no parênquima fundamental, sendo esta distribuição denominada atactostélica, segundo padrão típico de Liliopsidas citado por ESAU (1972 e 1974), FAHN (1974) e MAUSETH (1988).



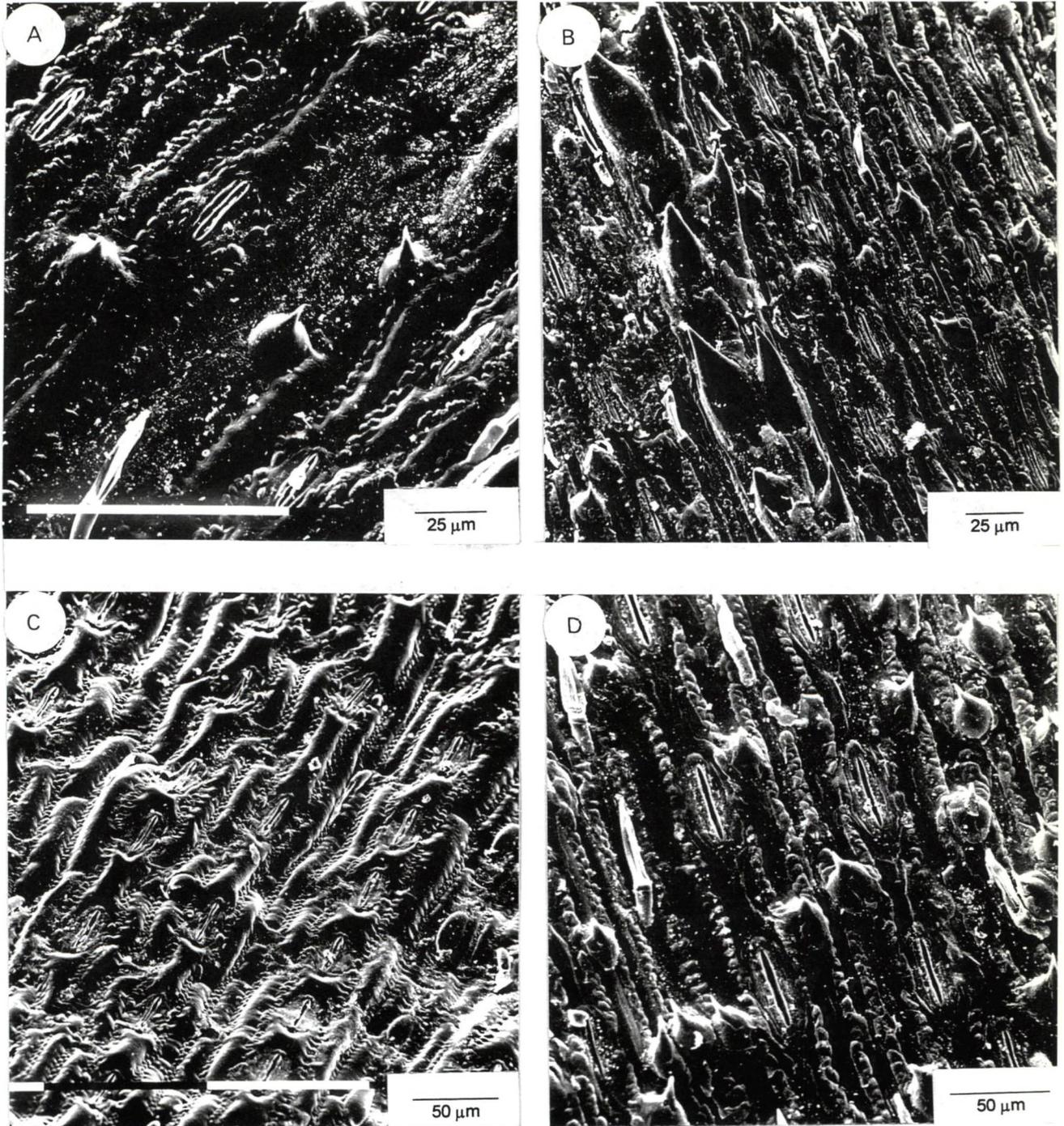
**Fig. 4-** **A-** Face adaxial da bainha foliar de *P. purpureum*; **B-** Detalhe da figura anterior, destacando um estômato; **C-** Face abaxial da bainha foliar; **D-** Detalhe da fig. anterior, detalhando os tricomas em forma de gancho ("hooks"); **E-** Face abaxial, destacando-se céls. silicosas sobre a nervura ( ← ); **F-** Face abaxial da bainha foliar. (Todas em vista frontal e em Microscopia Eletrônica de Varredura = MEV).



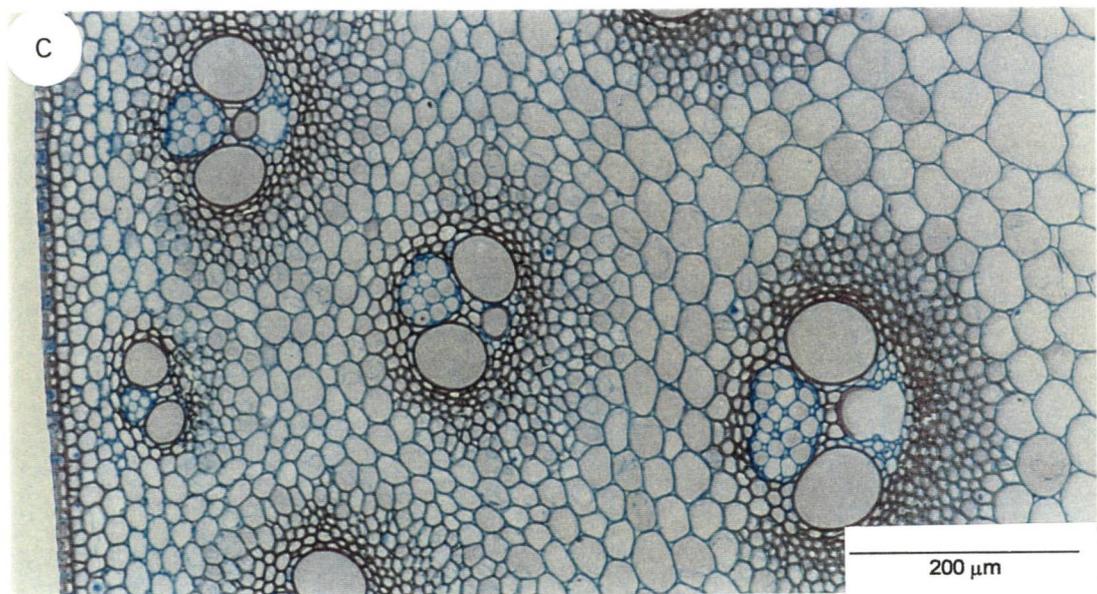
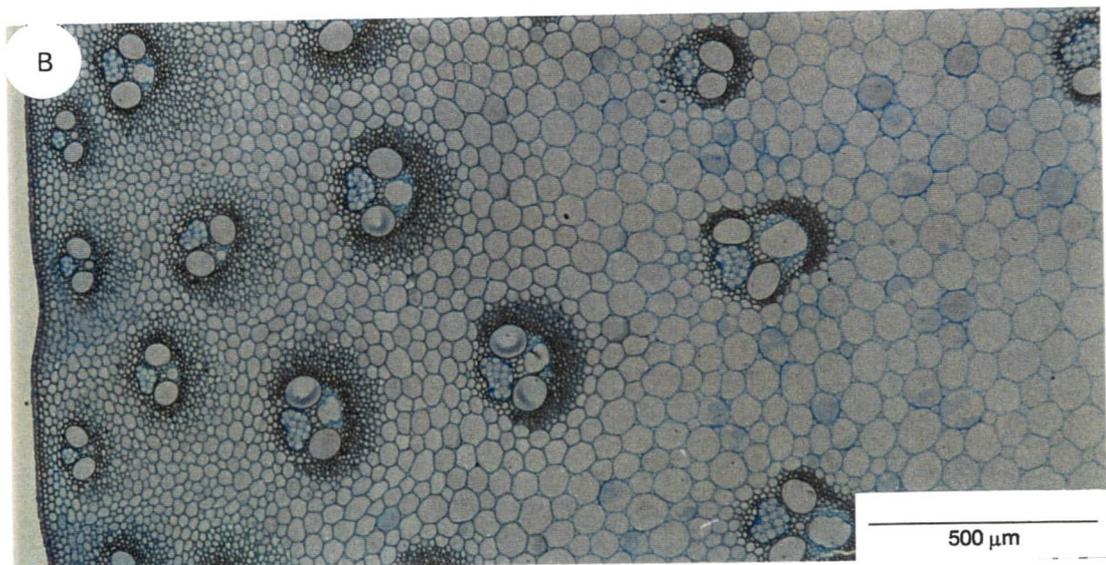
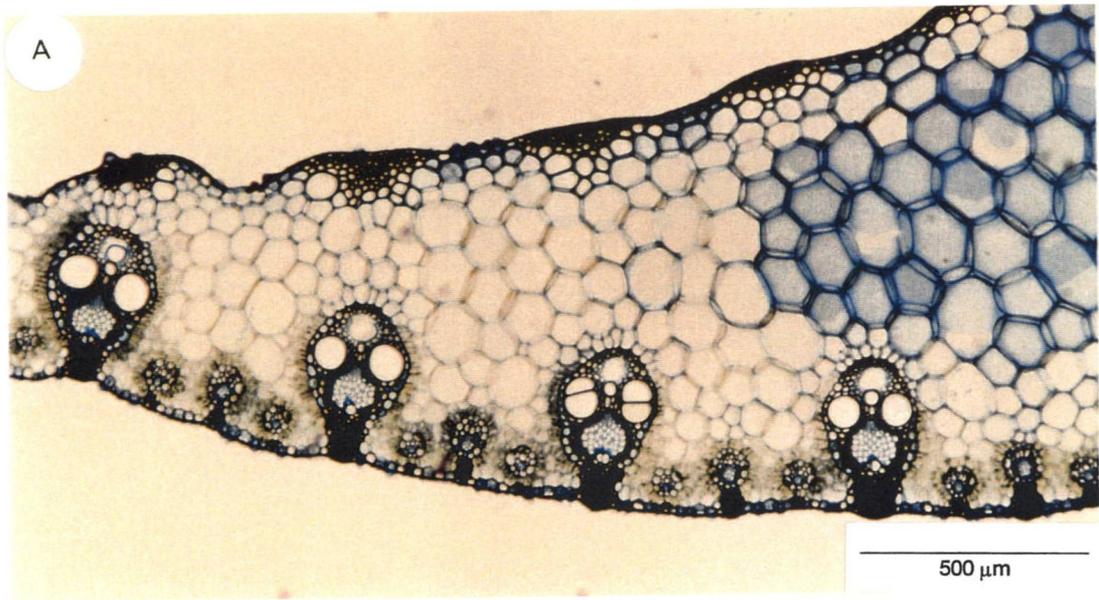
**Fig. 5-** A- Vista frontal do limbo foliar, destacando céls. longas com paredes anticlinais sinuosas (↗), céls. silicosas (←) e céls. suberosas (→); B- Secção transversal da bainha foliar, destacando céls. epidérmicas da face adaxial; C- Idem a fig. anterior, porém da face abaxial; D- Secção transversal da bainha foliar; E- Secção transversal do limbo foliar. (Todas as figuras em Microscopia fotônica = MF).



**Fig. 6-** Secções transversais de *P. purpureum*. **A-** Limbo foliar, feixe de grande porte; **B-** Idem, feixe de médio porte; **C-** Idem, feixe de pequeno porte; **D-** Secção transversal da quilha. (MF)



**Fig. 7-** A- Face adaxial do limbo foliar; B- Idem a fig. anterior, destacando tricomas pontiagudos pareados sobre a nervura e tricomas em forma de gancho na região intercostal; C- Face abaxial do limbo; D- Idem a fig. anterior, destacando tricomas bicelulares unisseriados e em forma de gancho. Todas as figuras em vista frontal. (MEV)



**Fig. 8-** Secções transversais de *P. purpureum*. A- Região da quilha foliar; B e C- Caule. (MF)

### 4.3- Anatomia Quantitativa

#### 4.3.1 - Anatomia quantitativa da bainha foliar

As porcentagens dos diferentes tecidos encontrados na bainha foliar dos três cultivares de *P. purpureum* nas três coletas estão demonstradas na Tabela 2.

TABELA 2- Porcentagem média e desvio padrão da soma dos diferentes tecidos presentes em bainhas foliares de cultivares de *P. purpureum* em três diferentes épocas de coleta.

| CULTIVAR         | Tecido epidérmico | Tecido parenquimático | Tec. vasc. lignif. + esclerênquima | Tec. vascular não lignificado |
|------------------|-------------------|-----------------------|------------------------------------|-------------------------------|
| <b>307 Testo</b> |                   |                       |                                    |                               |
| Coleta 1         | 3,22 ± 0,60 c     | 89,16 ± 0,68 a        | 6,78 ± 0,61 b                      | 0,84 ± 0,06 a                 |
| Coleta 2         | 3,54 ± 0,57 b     | 56,10 ± 1,67 b        | 5,64 ± 0,59 c                      | 0,78 ± 0,20 a                 |
| Coleta 3         | 4,05 ± 1,05 a     | 53,33 ± 2,55 c        | 8,27 ± 1,30 a                      | 0,98 ± 0,24 a                 |
| <b>Roxo</b>      |                   |                       |                                    |                               |
| Coleta 1         | 4,13 ± 0,65 a     | 86,98 ± 2,26 a        | 6,83 ± 0,50 b                      | 1,16 ± 0,17 a                 |
| Coleta 2         | 3,58 ± 0,32 b     | 51,91 ± 2,37 c        | 6,68 ± 0,52 b                      | 0,89 ± 0,09 a                 |
| Coleta 3         | 3,32 ± 0,44 b     | 53,50 ± 4,64 b        | 7,23 ± 0,52 a                      | 0,95 ± 0,03 a                 |
| <b>309 Areia</b> |                   |                       |                                    |                               |
| Coleta 1         | 3,79 ± 0,46 a     | 89,06 ± 1,01 a        | 6,24 ± 0,71 b                      | 0,91 ± 0,19 a                 |
| Coleta 2         | 3,99 ± 0,72 a     | 49,23 ± 2,16 c        | 6,25 ± 1,16 b                      | 0,86 ± 0,14 a                 |
| Coleta 3         | 3,01 ± 0,36 b     | 51,77 ± 4,61 b        | 7,52 ± 0,30 a                      | 1,01 ± 0,05 a                 |

Letras diferentes na mesma coluna, dentro de cada cultivar, representam dados significativamente diferentes. Teste de Duncan,  $p < 0,05$ .

Verifica-se que a participação do tecido vascular lignificado + esclerênquima na anatomia quantitativa da bainha foliar apresentou significativos incrementos ( $p < 0,05$ ) à medida que o vegetal envelheceu. Isto ocorreu sendo este aumento significativo estatisticamente para os três cultivares, principalmente da segunda para a terceira coleta.

O aumento da área de tecidos lignificados com o envelhecimento do vegetal na bainha foliar está relacionado com o crescimento do porte dos feixes vasculares, bem como o aumento no número de feixes, pois, com exceção da maioria das células constituintes do floema, as demais células presentes no feixe vascular (xilema, fibras, parênquima) são fortemente lignificadas. Ainda acrescenta-se a este fato, o aumento na área das calotas esclerenquimáticas sub-epidérmicas, já que estas calotas têm função de proteção dos feixes vasculares, portanto, com o aumento do porte e com a formação de novos feixes, há necessidade de um maior número de calotas esclerenquimáticas, e com tamanho proporcional ao feixe vascular.

O cultivar EMPASC 307 Testo apresentou uma porcentagem mais elevada deste tecido na última coleta do que os outros cultivares. Neste cultivar houve uma pequena redução da porcentagem deste tecido da primeira para a segunda coleta, e um aumento mais significativo da primeira para a terceira coleta, o que não foi expressivo para os demais cultivares. A Figura 9 ilustra estas variações nas porcentagens dos tecidos.

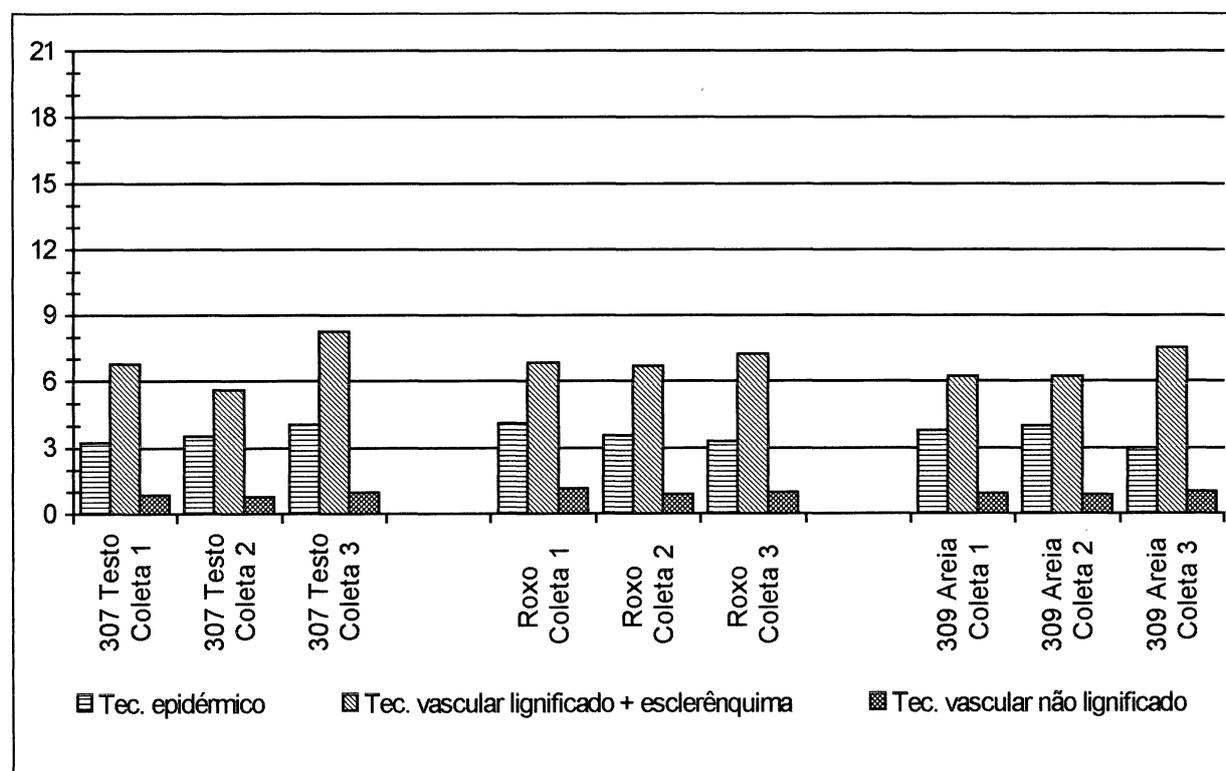
Os tecidos lignificados causam uma grande interferência na digestibilidade das forrageiras (HANNA *et al.*, 1973; AKIN e BURDICK, 1975 e 1981; AKIN *et al.*, 1990; WILSON, 1993). Dessa maneira, o nível de lignificação presente na bainha foliar do cv. EMPASC 307 Testo representa uma barreira para a digestão, estando os cultivares Roxo e EMPASC 309 Areia com potencialidade superior.

O tecido epidérmico apresentou-se com um decréscimo significativo ( $p < 0,05$ ) em sua proporção nos cultivares Roxo e EMPASC 309 Areia e com aumento significativo ( $p < 0,05$ ) entre as três diferentes épocas de coleta para o cultivar EMPASC 307 Testo, conforme pode-se constatar na Tabela 2 e na Figura 9.

Como a epiderme não é um dos tecidos favoráveis à degradação, a maior quantidade deste tecido irá reduzir o potencial de digestibilidade da espécie, o que compromete o desempenho do cultivar EMPASC 307 Testo.

A porcentagem do tecido vascular não lignificado, que corresponde basicamente ao floema, não apresentou uma variação significativa para nenhum dos cultivares nas diferentes coletas, conforme os dados apresentados na Figura 9. Este fato é facilmente compreensível, já que o tecido floemático só sofre incremento pela formação de novos feixes condutores, o que, tratando-se de proporcionalidade na planta, é compensado pela alteração das proporções dos demais tecidos. Este tecido, dentre os demais presentes na bainha foliar, foi o que obteve os menores desvios padrões, o que evidencia uma baixa variabilidade entre as repetições.

FIGURA 9- Porcentagem média dos tecidos presentes em bainhas foliares de três cultivares de *P. purpureum* em três épocas de coleta.



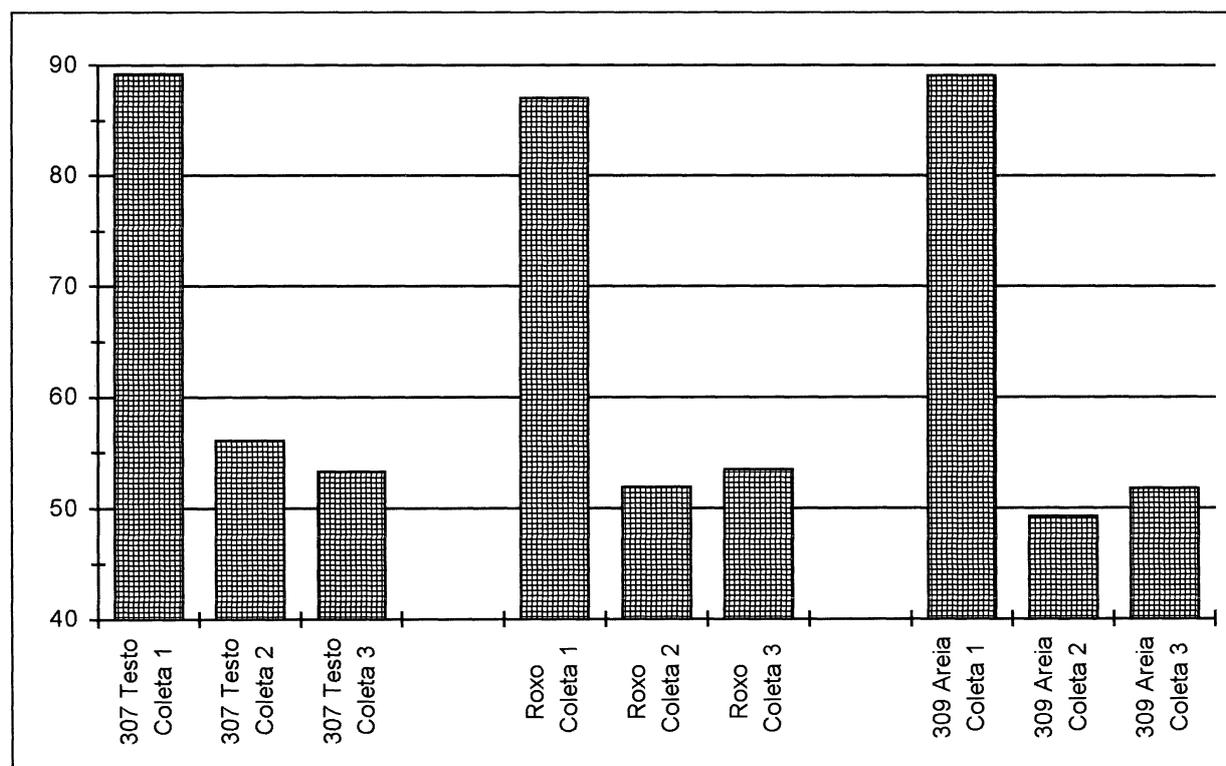
O floema é um dos tecidos mais disponíveis à degradação, perdendo somente para o mesofilo, porém, devido à sua pequena proporção no órgão, pouco interfere no potencial digestivo geral da forrageira (VENTRELLA, 1995).

Como último tecido mensurado, encontra-se o tecido parenquimático, que

apresentou um comportamento característico na bainha foliar, como constata-se pelas Tabela 2. Em todos os cultivares houve sensível redução ( $p < 0,05$ ) entre as porcentagens deste tecido, da primeira para a segunda coleta. Esta redução está associada à formação do aerênquima, que ocorre exatamente entre a primeira e a segunda coleta, e ao aumento da área deste tecido com a maturidade do vegetal.

Quanto à porcentagem deste tecido em cada cultivar, a cada coleta, os dados foram semelhantes, o que não permitindo diferenciá-los quanto aos seus respectivos potenciais digestivos, pois o mesofilo, devido ao arranjo de células, natureza das paredes celulares e grande porcentagem ocupada em relação ao total da folha, é o tecido que efetivamente mais afeta o potencial digestivo.

FIGURA 10- Porcentagem média do tecidos parenquimático presente em bainhas foliares de três cultivares de *P. purpureum* em três épocas de coleta.



Em 1965, JOHNSTON e WAITE, avaliando o teor de lignina em diferentes órgãos de *Lolium perene* e *Dactylis glomerata*, com 10 e 11 coletas, respectivamente, em

intervalos entre 7 a 10 dias, determinaram, na bainha foliar, um aumento de 5 para 9% para a primeira espécie e de 4 para 10% na segunda espécie, evidenciando um grande aumento no teor deste componente com o envelhecimento do material.

Observando a bainha foliar de quatro forrageiras de inverno (*Lolium perene*, *Festuca arundinacea*, *Dactylis glomerata* e *Avena sativa*), WILKINS (1972), determinou as porcentagens de feixes vasculares e de esclerênquima, e encontrou um acréscimo nestes tecidos quando houve coletas no estágio em que a planta apresentava seis folhas desenvolvidas e na época da antese.

Segundo WILSON (1976b), CHERNEY e MARTEN (1982, *apud* WILSON, 1993), no geral, as proporções de tecidos na bainha foliar aparentemente não se alteram com a idade, porém ocorre um marcante aumento na espessura das paredes celulares das células lignificadas, segundo o primeiro autor. Em *P. purpureum* houve uma alteração das proporções dos tecidos, como pode-se constatar, principalmente, pelo surgimento do aerênquima que não é mencionado pelos diversos autores.

#### 4.3.2 - Anatomia quantitativa do limbo foliar

Os dados pertinentes às porcentagens dos diferentes tecidos encontrados no limbo foliar de *P. purpureum* encontram-se na Tabela 3.

Pode-se evidenciar que o cultivar EMPASC 307 Testa apresentou maior proporção de tecido vascular + esclerênquima que os demais, tanto na primeira quanto na última coleta, sugerindo ser este cultivar o de menor potencial digestivo, já que é o que também possui a menor porcentagem de tecido parenquimático.

O cultivar EMPASC 309 Areia apresentou menor quantidade de tecido lignificado, em todas as coletas, sugerindo maior potencial de digestibilidade. A porcentagem de tecido parenquimático foi semelhante ao cultivar Roxo.

Observando-se a Figura 11, pode-se evidenciar mais claramente o aumento nos tecidos lignificados com o envelhecimento do material, em todos os cultivares. Este aumento, está relacionado, assim como associado para a bainha foliar, com a formação e crescimento dos feixes vasculares. No caso do limbo foliar, acrescenta-se ainda o desenvolvimento da extensão da bainha do feixe, que é fortemente lignificada e nos feixes de maior porte invade totalmente a epiderme, do modo como relacionado na descrição anatômica do capim-elefante.

TABELA 3- Porcentagem média e desvio padrão da soma dos diferentes tecidos presentes no limbo foliar de cultivares de *P. purpureum* em três diferentes épocas de coleta.

| CULTIVAR         | Tecido epidérmico | Tecido parenquimático | Tec. vasc. lignif. + esclerênquima | Tec. vascular não lignificado |
|------------------|-------------------|-----------------------|------------------------------------|-------------------------------|
| <b>307 Testo</b> |                   |                       |                                    |                               |
| Coleta 1         | 14,86 ± 2,36 b    | 74,51 ± 2,51 a        | 8,38 ± 0,68 b                      | 2,28 ± 0,18 b                 |
| Coleta 2         | 16,26 ± 1,07 a    | 73,03 ± 0,99 a        | 8,51 ± 0,66 b                      | 2,19 ± 0,21 b                 |
| Coleta 3         | 13,74 ± 1,64 c    | 70,15 ± 2,79 b        | 12,70 ± 1,25 a                     | 2,97 ± 0,33 a                 |
| <b>Roxo</b>      |                   |                       |                                    |                               |
| Coleta 1         | 19,33 ± 2,14 a    | 72,34 ± 3,88 a        | 7,91 ± 1,19 c                      | 2,10 ± 0,22 c                 |
| Coleta 2         | 15,88 ± 2,74 b    | 72,20 ± 2,44 a        | 9,40 ± 0,67 b                      | 2,52 ± 0,18 b                 |
| Coleta 3         | 14,52 ± 1,72 c    | 72,94 ± 3,15 a        | 10,73 ± 0,61 a                     | 2,96 ± 0,32 a                 |
| <b>309 Areia</b> |                   |                       |                                    |                               |
| Coleta 1         | 14,81 ± 2,52 c    | 75,26 ± 2,75 a        | 6,65 ± 0,99 b                      | 1,81 ± 0,35 b                 |
| Coleta 2         | 16,88 ± 1,95 a    | 72,47 ± 0,75 b        | 9,45 ± 1,49 a                      | 2,52 ± 0,25 a                 |
| Coleta 3         | 15,74 ± 2,34 b    | 72,01 ± 3,05 b        | 9,33 ± 1,26 a                      | 2,75 ± 0,29 a                 |

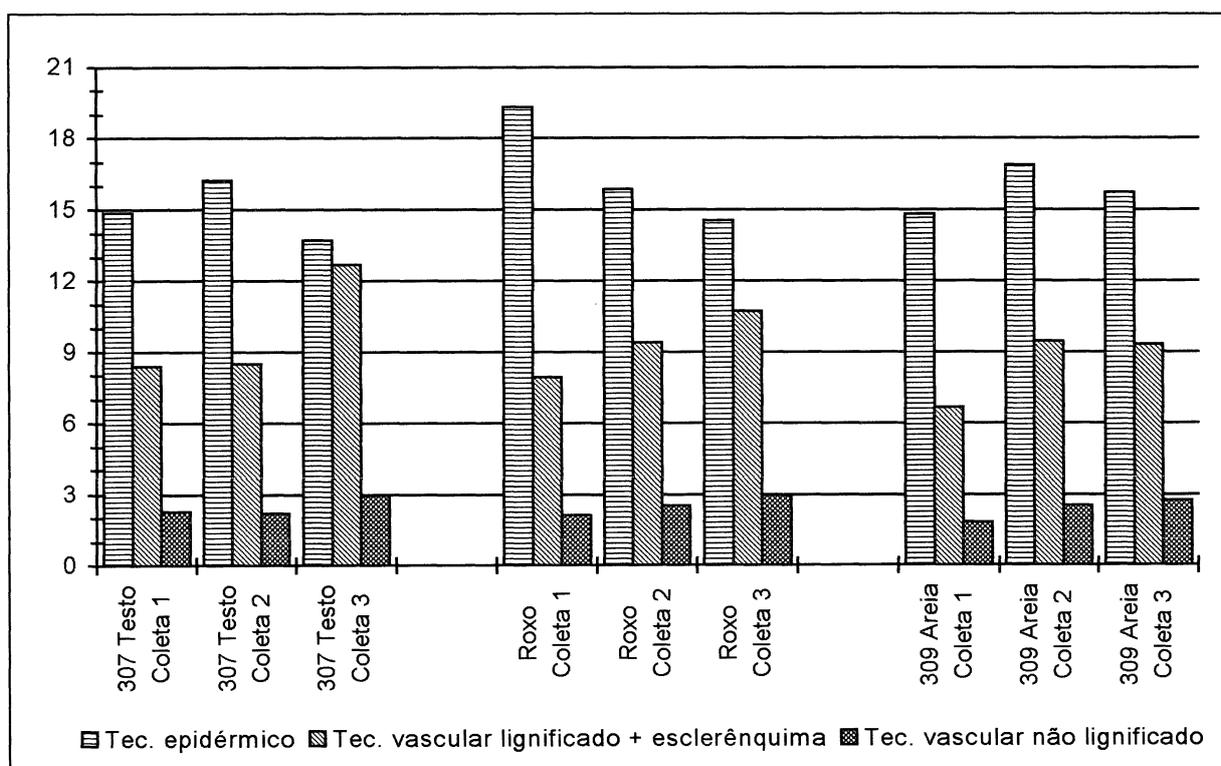
Letras diferentes na mesma coluna, dentro de cada cultivar, representam dados significativamente diferentes. Teste de Duncan,  $p < 0,05$ .

Constata-se também a diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) da proporção de tecido epidérmico nos cultivares EMPASC 307 Testo e principalmente no cv. Roxo. Estes resultados devem-se principalmente ao aumento do número de células buliformes na epiderme da face adaxial, sendo que o cultivar EMPASC 309 Areia sofreu um pequeno,

porém significativo ( $p < 0,05$ ) acréscimo na proporção deste tecido.

Conforme a Tabela 3 e a Figura 11, a área de tecido vascular não lignificado, apresentou significativa expansão na participação do total de tecidos, em todos os cultivares, com o envelhecimento do material. Isto deve-se principalmente ao crescimento dos feixes de médio porte e surgimento de novos feixes. Tal fato poderia caracterizar o aumento no potencial digestivo dos cultivares com o envelhecimento. Entretanto, este aumento do potencial digestivo torna-se insignificante considerando-se a proporção que ocupam no limbo foliar, sendo também anulado pelo aumento da lignificação das células parenquimáticas que o circundam, bem como da bainha parenquimática, que dificulta o acesso dos microorganismos às células que constituem o floema.

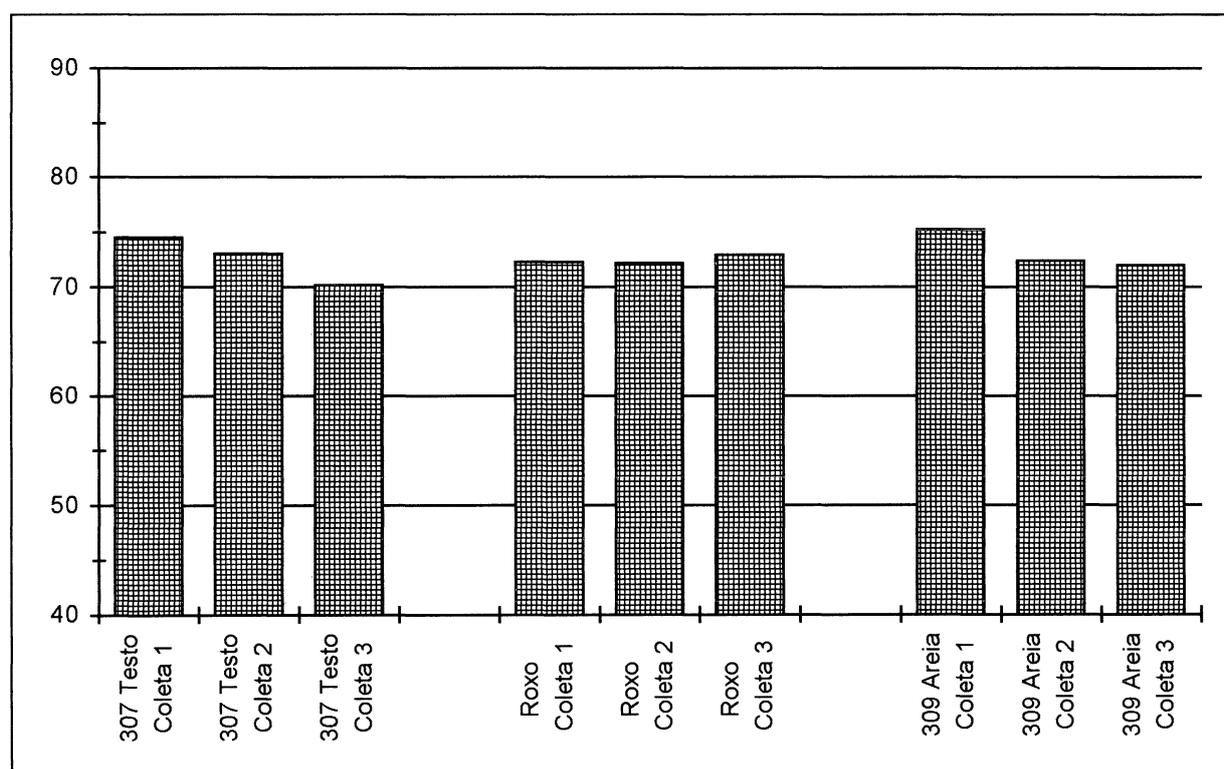
FIGURA 11- Porcentagem média dos tecidos presentes na região do limbo foliar de três cultivares de *P. purpureum* em três épocas de coleta.



A Figura 12 ilustra a evolução da porcentagem do tecido parenquimático nos três cultivares, onde os cultivares EMPASC 307 Testo e EMPASC 309 Areia sofreram

decréscimo significativo, como resultado do aumento da área do tecido lignificado. O cv. Roxo não diferiu significativamente, pois o aumento na quantidade de tecido lignificado foi compensado pela diminuição da proporção do tecido epidérmico. Considerando que este tecido é facilmente degradado e ocupa uma expressiva área na composição total do limbo foliar, pode-se evidenciar o menor potencial digestivo para o cv. EMPASC 307 Testa, permanecendo os demais cultivares com potenciais semelhantes.

FIGURA 12- Porcentagem média do tecido parenquimático presente na região do limbo foliar de três cultivares de *P. purpureum* em três épocas de coleta.



JOHNSTON e WAITE (1965), avaliando o teor de lignina na folha de *Lolium perene* e *Dactylis glomerata*, com 10 e 11 coletas e intervalos entre 7 a 10 dias, determinaram o aumento da porcentagem de lignina à medida que o material envelheceu.

WILKINS (1972), determinou as porcentagens de feixes vasculares e de esclerênquima nas folhas de cinco forrageiras de inverno (*Lolium perene*, *Festuca arundinacea*, *Themeda australis*, *Dactylis glomerata* e *Avena sativa*) e constatou

acréscimos na porcentagem de esclerênquima e tecido vascular, quando houve coletas no estágio em que a planta apresentava seis folhas desenvolvidas e na época da antese.

#### 4.3.3- Anatomia quantitativa da quilha foliar

As porcentagens dos diferentes tecidos presentes na região da quilha foliar encontram-se na Tabela 4.

Observando-se a Tabela 4, pode-se constatar que não há tendência de aumento do tecido lignificado + esclerênquima nos cv. EMPASC 307 Testo e Roxo, observando-se apenas para o cv. EMPASC 309 Areia. Acreditamos que tal fato esteja associado a um fator matemático de proporcionalidade. Pois, se a altura da quilha sofresse espessamento através do incremento da área de tecido parenquimático, e se tal incremento, fosse acompanhado, na mesma proporção, do aumento de tecidos lignificados, somente a área de tecido epidérmico sofreria proporcional redução. Se o crescimento também tivesse ocorrido no sentido do limbo, certamente haveria aumento nas superfícies da quilha, e a proporção do tecido epidérmico não teria diminuído.

Ainda visualizando a Figura 13 e a Tabela 4, observa-se a redução ( $p < 0,05$ ) na proporção do tecido epidérmico, em todas as coletas e para todos os cultivares. Isto deve-se principalmente ao fator de proporcionalidade descrito acima.

Quanto ao tecido floemático, no cv. Roxo não observa-se um incremento significativo ( $p > 0,05$ ) na sua proporção. No cv. EMPASC 309 Areia, o aumento ( $p < 0,05$ ) ocorreu somente das duas primeiras coletas para a terceira, justificado principalmente pelo crescimento dos feixes vasculares da quilha, como constatado por RODELLA *et al.* (1982 e 1984). No cv. EMPASC 307 Testo não houve decréscimo significativo ( $p > 0,05$ ) da proporção deste tecido entre a primeira e a terceira coleta, porém significativo ( $p < 0,05$ ) da primeira para a segunda coleta.

TABELA 4- Porcentagem média e desvio padrão da soma dos diferentes tecidos presentes na região da quilha foliar de cultivares de *P. purpureum* em três diferentes épocas de coleta.

| CULTIVAR         | Tecido epidérmico | Tecido parenquimático | Tec. vasc. lignif. + esclerênquima | Tec. vascular não lignificado |
|------------------|-------------------|-----------------------|------------------------------------|-------------------------------|
| <b>307 Testo</b> |                   |                       |                                    |                               |
| Coleta 1         | 4,11 ± 0,92 a     | 79,19 ± 2,85 c        | 14,94 ± 2,15 a                     | 1,32 ± 0,05 a                 |
| Coleta 2         | 2,64 ± 0,33 b     | 84,45 ± 2,34 a        | 11,02 ± 1,38 b                     | 0,92 ± 0,21 b                 |
| Coleta 3         | 1,96 ± 0,88 c     | 81,04 ± 2,95 b        | 14,61 ± 0,83 a                     | 1,15 ± 0,14 a b               |
| <b>Roxo</b>      |                   |                       |                                    |                               |
| Coleta 1         | 3,64 ± 0,82 a     | 84,50 ± 1,49 b        | 11,43 ± 1,39 b                     | 0,95 ± 0,12 a                 |
| Coleta 2         | 2,88 ± 0,57 b     | 83,51 ± 1,50 c        | 12,55 ± 1,13 a                     | 1,05 ± 0,10 a                 |
| Coleta 3         | 1,87 ± 0,17 c     | 85,38 ± 0,92 a        | 11,65 ± 0,81 b                     | 1,10 ± 0,13 a                 |
| <b>309 Areia</b> |                   |                       |                                    |                               |
| Coleta 1         | 4,00 ± 0,50 a     | 84,86 ± 1,67 a        | 10,17 ± 1,55 c                     | 0,96 ± 0,12 b                 |
| Coleta 2         | 3,70 ± 0,53 b     | 82,29 ± 2,08 b        | 13,70 ± 0,70 a                     | 1,06 ± 0,07 b                 |
| Coleta 3         | 2,79 ± 0,42 c     | 81,92 ± 2,58 b        | 13,14 ± 0,78 b                     | 1,58 ± 0,75 a                 |

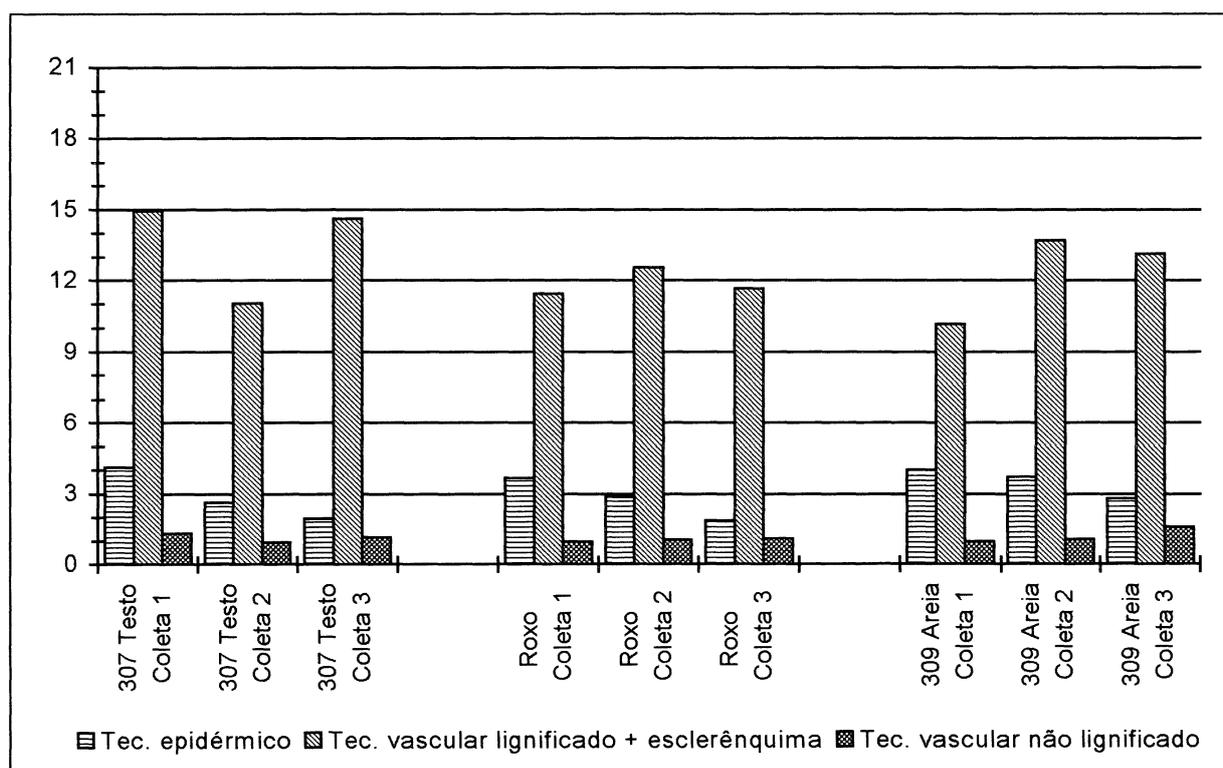
Letras diferentes na mesma coluna, dentro de cada cultivar, representam dados significativamente diferentes. Teste de Duncan,  $p < 0,05$ .

A variação do tecido parenquimático dos três cultivares encontram-se na Figura 14, onde não evidencia-se o aumento significativo ( $p > 0,05$ ) no cv. Roxo, um incremento significativo ( $p < 0,05$ ) no cv. EMPASC 307 Testo e um decréscimo ( $p < 0,05$ ) no cv. EMPASC 309 Areia.

RODELLA *et al.* (1982), quando estudaram a região da quilha de *Brachiaria brizantha* e *B. mutica* em três posições de inserção no caule, observara o aumento da proporção de tecido esclerenquimático nas duas espécies e aumento no tecido parenquimático da quilha de *B. mutica*. Estas observações ocorreram no sentido das folhas da parte superior da planta para as da parte inferior, sendo as folhas inferiores formadas primeiro e portanto, mais velhas. O tecido parenquimático de *B. brizantha* permaneceu inalterado.

Em 1984, RODELLA *et al.*, observando a quilha de *Panicum maximum* e *P. coloratum*, e associando com a posição da folha no colmo, constataram aumento na porcentagem de tecido parenquimático nas duas espécies, à medida que as folhas envelheceram; entretanto, para a porcentagem de tecido esclerenquimático houve um decréscimo, nesse mesmo sentido, em ambas as espécies estudadas.

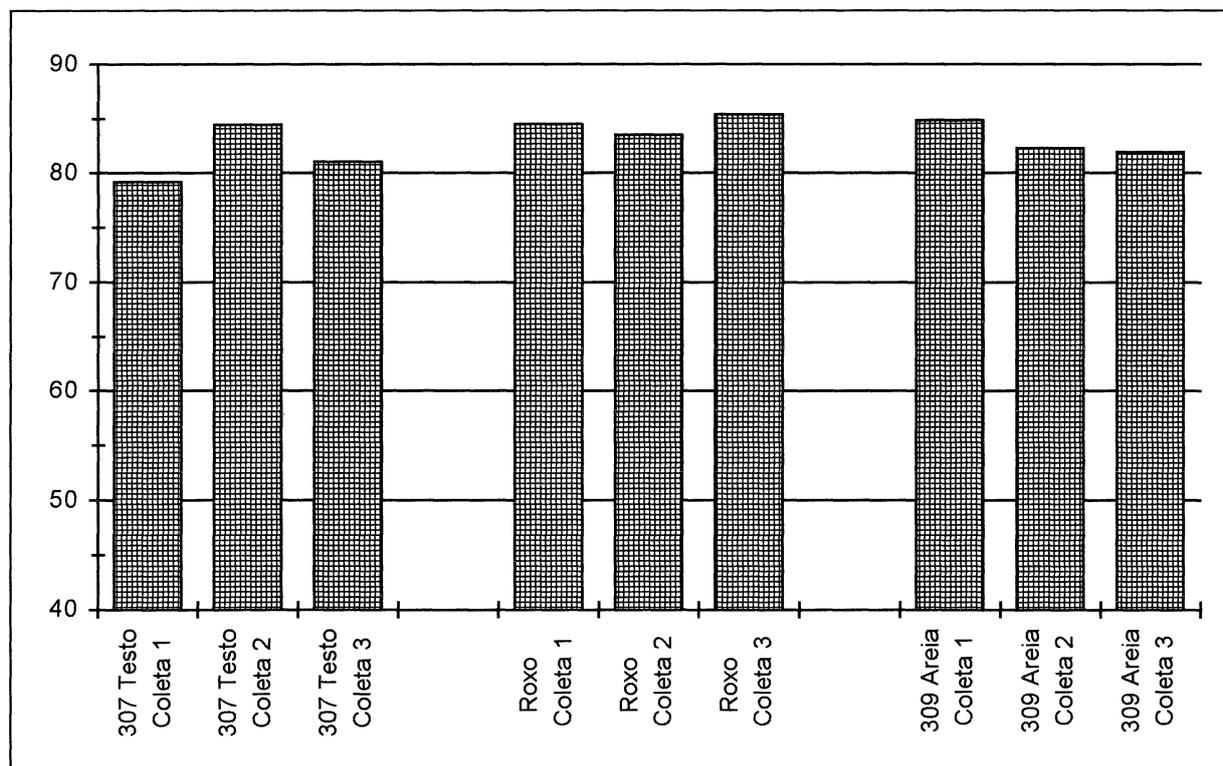
FIGURA 13- Porcentagem média dos tecidos presentes na região da quilha foliar de três cultivares de *P. purpureum* em três épocas de coleta.



Em 1993, WILSON relatou que a região da quilha geralmente possui maior quantidade de tecido vascular e esclerenquimático do que a lâmina foliar e que esta região representa de 14 a 24% do total dos tecidos lignificados da lâmina foliar.

Em nosso estudo, também pudemos observar que a quilha possui uma maior proporção de tecidos vasculares lignificados e esclerenquimáticos do que o limbo foliar, porém WILSON (1993) não fez mensurações separando o tecido vascular lignificado do não lignificado.

FIGURA 14- Porcentagem média do tecido parenquimático presente na região da quilha foliar de três cultivares de *P. purpureum* em três épocas de coleta.



#### 4.3.4- Anatomia quantitativa do caule

As porcentagens dos diferentes tecidos presentes nos caules dos três cultivares encontram-se na Tabela 5 e nas Figuras 15 e 16.

Pode-se identificar um gradiente positivo da proporção ( $p < 0,05$ ) do tecido vascular lignificado + esclerênquima nos três cultivares, nas três coletas dos cv. EMPASC 307 Testo e EMPASC 309 Areia e somente da primeira para as coletas posteriores no cv. Roxo. O aumento deste tecido está relacionado com o aumento do porte dos feixes líbero-lenhosos e com o aumento da bainha esclerenquimática.

O cv. Roxo apresentou nas duas primeiras coletas uma alta proporção deste tecido, comparando-se com os demais cultivares, e na última coleta apresentou porcentagem muito próxima à do cv. EMPASC 309 Areia.

TABELA 5- Porcentagem média e desvio padrão da soma dos diferentes tecidos presentes em caules de cultivares de *P. purpureum* em três diferentes épocas de coleta.

| CULTIVAR         | Tecido epidérmico | Tecido parenquimático | Tec. vasc. lignif. + esclerênquima | Tec. vascular não lignificado |
|------------------|-------------------|-----------------------|------------------------------------|-------------------------------|
| <b>307 Testo</b> |                   |                       |                                    |                               |
| Coleta 1         | 0,60 ± 0,10 a     | 85,17 ± 5,04 b        | 8,40 ± 0,75 c                      | 1,07 ± 0,73 b                 |
| Coleta 2         | 0,81 ± 0,08 a     | 87,91 ± 2,35 a        | 10,05 ± 2,18 b                     | 1,23 ± 0,22 b                 |
| Coleta 3         | 0,84 ± 0,16 a     | 84,97 ± 1,27 b        | 12,09 ± 0,90 a                     | 1,64 ± 0,06 a                 |
| <b>Roxo</b>      |                   |                       |                                    |                               |
| Coleta 1         | 0,64 ± 0,06 a     | 87,59 ± 2,02 a        | 11,46 ± 1,53 b                     | 0,88 ± 0,30 b                 |
| Coleta 2         | 0,72 ± 0,05 a     | 82,94 ± 0,89 b        | 14,51 ± 0,76 a                     | 1,82 ± 0,14 a                 |
| Coleta 3         | 0,71 ± 0,04 a     | 82,95 ± 1,34 b        | 14,58 ± 1,27 a                     | 1,75 ± 0,14 a                 |
| <b>309 Areia</b> |                   |                       |                                    |                               |
| Coleta 1         | 0,63 ± 0,11 a     | 88,34 ± 2,36 a        | 7,33 ± 1,23 c                      | 2,56 ± 1,04 a                 |
| Coleta 2         | 0,76 ± 0,08 a     | 84,92 ± 1,29 b        | 12,87 ± 1,27 b                     | 1,45 ± 0,05 b                 |
| Coleta 3         | 0,87 ± 0,17 a     | 82,78 ± 1,62 c        | 14,63 ± 1,41 a                     | 1,66 ± 0,25 b                 |

Letras diferentes na mesma coluna, dentro de cada cultivar, representam dados significativamente diferentes. Teste de Duncan,  $p < 0,05$ .

Quanto ao tecido epidérmico, não houve alterações significativas em todos os cultivares. Pequenos incrementos devem-se principalmente ao aumento da espessura da cutícula que recobre as células epidérmicas e ao espessamento das paredes periclinais e anticlinais externas celulares da epiderme.

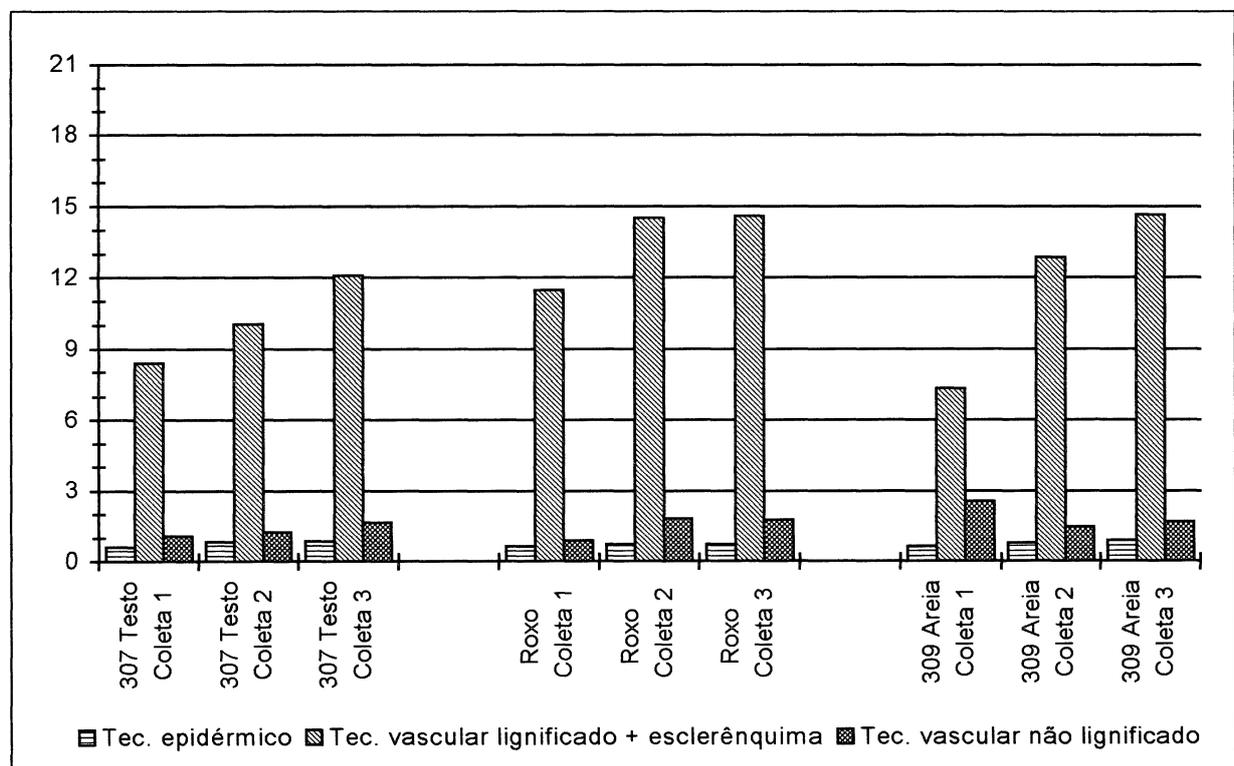
Em relação ao envelhecimento do material, houve um aumento significativo na porcentagem do tecido vascular não lignificado nos cv. EMPASC 307 Testo e Roxo.

Por vezes, interpretações mais conclusivas podem ser prejudicadas pela variabilidade dos resultados, isto ocorreu no cv. EMPASC 309 Areia, quando observou-se decréscimo na proporção do tecido vascular não lignificado, da primeira para a segunda coleta. Porém, com o desvio padrão muito elevado, o que ocorreu para os dados deste tecido neste cultivar, a desorientação dos feixes vasculares do caule jovem, relatada na descrição anatômica deste órgão, provocou tal elevação da variabilidade entre as

repetições e distorcendo a média em relação as demais coletas. Neste mesmo cultivar, constata-se que a partir da segunda coleta o desvio padrão diminuiu e as médias encontram-se no nível dos demais cultivares.

Analisando-se a Figura 16, nota-se uma tendência de diminuição na proporção do tecido parenquimático, devida, em parte, ao aumento dos tecidos epidérmico e vascular não lignificado, mas principalmente ao aumento da bainha esclerenquimática que circunda os feixes vasculares, o que elevou a proporção do tecido lignificado.

FIGURA 15- Porcentagem média dos tecidos presentes em caules de três cultivares de *P. purpureum* em três épocas de coleta.

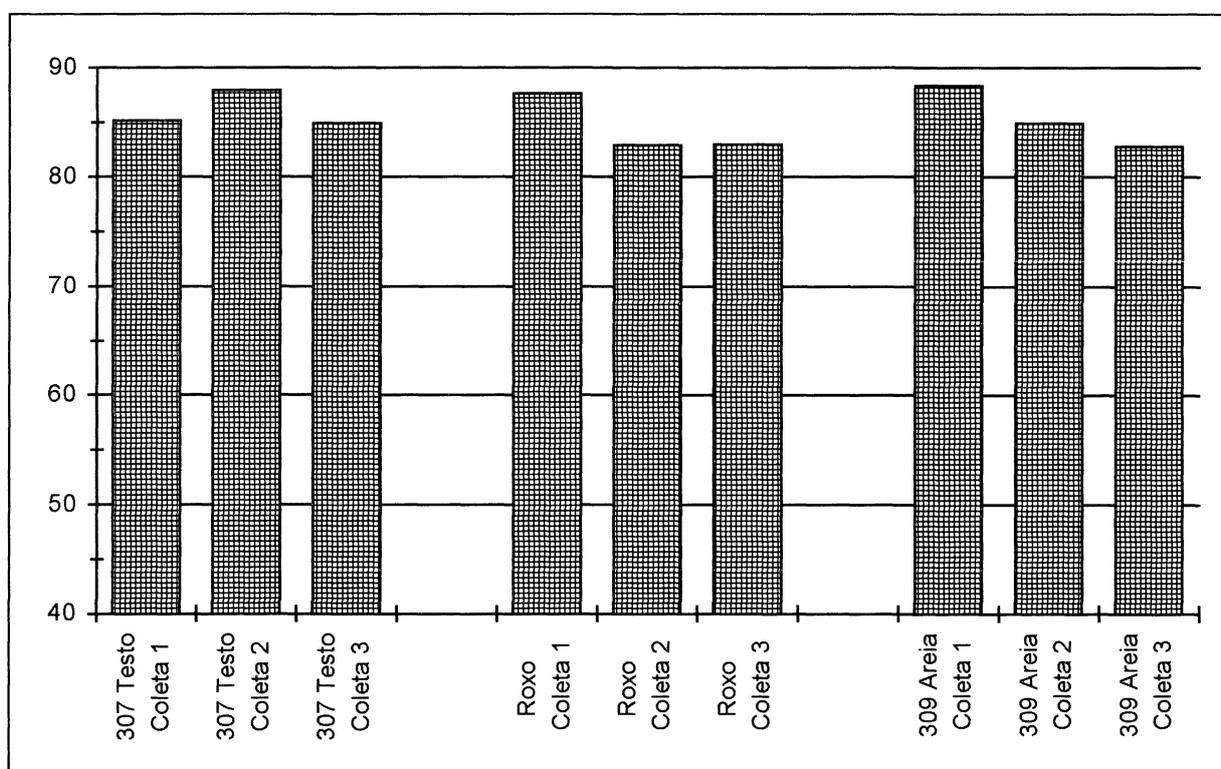


De acordo com JOHNSTON e WAITE (1965), avaliando a proporção de lignina presente em caules de *Lolium perenne* e *Dactylis glomerata*, foi constatado aumento significativo neste composto, à medida que os caules envelheceram. Isto deve-se a aposição da parede secundária, notadamente rica em lignina.

Em gramíneas, o maior aumento na proporção de tecidos lignificados

ocorrem quando a inflorescência está totalmente alongada (STEPPLER, 1951 *apud* WILSON, 1993).

FIGURA 16- Porcentagem média do tecido parenquimático presente no caule de três cultivares de *P. purpureum* em três épocas de coleta.



Segundo WILSON (1993), as porções mais inferiores do colmo são geralmente mais lignificadas que as superiores durante o processo de desenvolvimento do vegetal. O mesmo autor também cita que os caules de todos os tipos de forragens tem uma elevada proporção de suas secções transversais compreendidas por tecidos pouco digeríveis, como tecido vascular + esclerênquima acrescidos de uma variável proporção de parênquima. As células parenquimáticas sofrem uma mudança substancial com a maturidade do caule. Quando o caule é jovem, estas células são relativamente indiferenciadas, mas quando este envelhece, estas células podem tornar-se lignificadas no córtex e em volta dos feixes vasculares formando uma bainha. Esta redução do tecido parenquimático foi observado nos cultivares de *P. purpureum*.

#### 4.4- Degradação *in vitro* de tecidos

Os resultados obtidos com a submissão dos órgãos de *P. purpureum* estudados à degradação *in vitro* foram registrados através de fotomicrografias, e encontram-se analisados a seguir. Como o gradiente de degradação com o envelhecimento do material não foi relevante da primeira para a segunda coleta, optou-se por apresentar resultados mais evidentes, observados entre a primeira e a terceira coleta.

Todas as pranchas referentes à degradação estão constituídas pelos três tempos de incubação (6, 24 e 48 h), sendo que em alguns casos não restou material vegetal suficiente para emblocamento no tempo 48 h, permanecendo, portanto, sem registro fotográfico.

No geral, pode-se observar pelas Fig. 17 e 18, através da utilização da luz polarizada após uma dupla coloração com Fucsina Básica + Azul de Astra, um indicativo de redução na quantidade células com paredes pouco lignificadas em todos os órgãos. Ao final das 48 h de incubação restaram apenas as células cujas paredes apresentam maior espessamento. Houve aparente degradação da parede presente em todas as células, constatado através da coloração mais avermelhada, indicativa da presença de maior concentração de lignina.

Como já citado anteriormente, a digestão da parede celular necessita da aderência da biota ruminal, como pode-se constatar nas células mesofílicas da bainha foliar representadas na Fig. 19-B. Observa-se na Fig. 19-A o floema, circundado por fibras com paredes celulares bem espessadas e lume estreito, que permanecem intactas mesmo após 48 h de digestão. As demais células constituintes do floema, que possuem paredes de natureza celulósica e sem espessamento, apresentam-se totalmente digeridas, restando apenas uma massa sugestiva de microorganismos ruminais.

Recorrendo-se ao auxílio da microscopia eletrônica de varredura, observa-se na Fig. 20 que a biota ruminal digeriu todas as células parenquimáticas, permanecendo os feixes limitados apenas pela bainha parenquimática. Em algumas amostras, Fig. 20-C-D, os feixes da bainha foliar ficaram sustentados apenas pela epiderme da face abaxial, já que a da face adaxial foi totalmente digerida.

No Brasil, alguns pesquisadores trabalharam com o valor nutritivo de *P. purpureum*, relacionado-o com a maturidade do vegetal. Trabalhando com a análise bromatológica desta espécie, SILVEIRA *et al.* (1974) determinou que o teor de fibra bruta na matéria seca aumentou 100% do 45º dia de idade para o 225º dia, e destes, 50% ocorreram dos 45º para o 105º dia de idade. Dessa maneira, depois de 3 meses de idade, o capim elefante aumenta o teor de fibra bruta em 50%, o que compromete muito sua digestibilidade. Estudando a digestibilidade na matéria seca do capim-elefante, ANDRADE e GOMIDE (1971), determinaram que esta diminuiu 50% a partir do 28º dia até o 140º dia de idade do material.

Isto demonstra a importância da correta caracterização dos tecidos vegetais com relação à lignificação e aproveitamento das fibras, não só objetivando-se a digestão ruminal, mas também a indústria de papel e celulose, digestão enzimática, utilização de fibras vegetais na tecelagem, entre outros.

#### **4.4.1- Degradação *in vitro* da bainha foliar**

O efeito da degradação sobre a bainha foliar de *P. purpureum*, na primeira e na terceira coleta estão representadas pelas Figuras 21 a 26.

Observando-se todos os cultivares representados nas Fig. 21 a 26, constata-se que houve um aparente aumento da área degradada com o envelhecimento do material.

Tal constatação está em oposição ao que é corrente na literatura, ou seja, que a degradação é inversamente proporcional ao envelhecimento do material.

Acredita-se que a presença do aerênquima contribuiu decisivamente para o resultado observado. Como o aerênquima apresentou-se regularmente disposto entre os feixes vasculares, proporcionou a formação de paralelas às nervuras, que serviram como locais de fácil deslocamento para os microorganismos. O fato deste aerênquima ter origem lisígena, pela presença de restos de paredes celulares rompidas e pelo próprio processo de destruição das células parenquimáticas, este tecido foi utilizado pela biota ruminal como ponto início da degradação do mesofilo.

Buscando informações que pudessem explicar este fato, em nenhuma bibliografia à disposição foi encontrado algo semelhante. Observamos também, que em nenhuma literatura consultada sobre digestibilidade ou degradação da bainha foliar, foi constatado ou associado este resultado e a possível participação do aerênquima no processo digestivo, pois as finalidades, para a planta, já foram abordadas na descrição anatômica do capim-elefante.

WILSON (1993), quando tratou do acesso da biota ruminal à parede celular, menciona o arranjo do mesofilo, a presença e o tamanho dos espaços intercelulares, como facilitadores do processo de digestão da parede celular pela biota ruminal. Assim, presumiu-se que o aumento ocorrido na degradação pode estar associado com o surgimento deste aerênquima.

Observando as Fig. 21 e 23, constata-se que em ambos os casos, o mesofilo é totalmente preenchido por células parenquimáticas, com pequenos espaços intercelulares, o que certamente dificultou o acesso da biota ruminal às células. Já na Fig. 24-B constata-se a presença de um pequeno aerênquima, e na sua periferia pequenas manchas avermelhadas, que podem ser formadas por biomassa microbiana oriunda do processo digestivo.

Sugere-se então que, o que ocasionou esta maior degradação na terceira coleta foi a formação do aerênquima, a qual facilitou o deslocamento e início do ataque da biota ruminal.

Analisando-se os cultivares separadamente e observando-se as Fig. 21, 23 e 25, conclui-se que como indicou a anatomia quantitativa da bainha foliar, principalmente pela quantidade de tecidos lignificados, os cultivares EMPASC 307 Testa e Roxo apresentaram uma degradação menos intensa na primeira coleta, apesar destes dois cultivares não estarem representados no tempo 48 h. Pode-se notar pela diferença de coloração, que mesmo no tempo 24 h o cv. EMPASC 307 Testa ainda apresentava uma grande quantidade de células com parede celulósica (azuladas). Apenas o cv. EMPASC 309 Areia, teve seu floema digerido mesmo no tempo 24 h, enquanto nos demais cultivares permaneceu intacto.

Na terceira coleta (Fig. 22, 24 e 26), observa-se um grau de degradação muito semelhante entre os cultivares, sendo que o cv. EMPASC 309 Areia, no tempo 48 h, apresentou somente a epiderme da face abaxial e os feixes líbero-lenhosos delimitados pela bainha parenquimática (síndrome Kranz), que permaneceu intacta. Observa-se na Fig. 26-C que o floema foi totalmente digerido, assim como a lacuna do protoxilema e a epiderme da face adaxial, restando da abaxial, somente as paredes periclinais externas das células epidérmicas e a cutícula, conforme descreveram outros autores (AKIN *et al.*, 1973; HANNA *et al.*, 1973; AKIN e BURDICK, 1981; HAKER e MINSON, 1981; AKIN *et al.*, 1990; WILSON, 1993). LATHAN *et al.* (1978), observou a lenta aderência das bactérias à cutícula, ao meta e protoxilema, à bainha do feixe vascular (síndrome Kranz) e aos cloroplastos.

Alguns autores estudaram o processo de digestão das espécies portadoras de síndrome Kranz. AKIN *et al.* (1983 e 1984), estudando espécies de *Panicum* com diferentes vias fotossintéticas, descreveram que a bainha do feixe vascular oferece grande

resistência à degradação, enquanto WILSON *et al.* (1983), também relataram que as espécies não-Kranz possuem digestibilidade nas folhas maior que as espécies Kranz.

O aerênquima que apresentou-se na terceira coleta proporcionou um maior acesso dos microorganismos às células parenquimáticas do mesofilo, que a partir de 6 h de incubação já apresentava sinais de degradação (Fig. 22-A, 24-A e 26-A). A ausência deste aerênquima na primeira coleta certamente dificultou este acesso às células parenquimáticas do mesofilo, ocasionando menor degradação.

#### 4.4.2- Degradação *in vitro* do limbo foliar

O efeito da degradação sobre o limbo foliar de *P. purpureum*, na primeira e na terceira coleta estão representadas pelas Figuras 27 a 32.

Na região do limbo, houve a nítida diminuição do grau de degradação da primeira para a terceira coleta, o que confirma os demais estudos referentes à degradação deste órgão.

Um fator bastante relevante observado neste trabalho e apenas mencionado por WILSON (1993) é a participação dos estômatos na degradação principalmente do mesofilo, na lâmina foliar (limbo e quilha). Os microorganismos utilizam o poro estomático como forma de transpor a epiderme e iniciam a degradação pela câmara sub-estomática. Como em *P. purpureum*, da mesma forma que na maioria das gramíneas, os estômatos encontram-se pareados às nervuras, tal início de degradação forma "bolsões" de tecidos degradados entre os feixes vasculares. Nas Fig. 27-A e 29-A observa-se tal fenômeno.

Certamente os estômatos possuem uma atuação mais expressiva no processo de digestão *in vitro*, pois no animal, a forragem é totalmente fragmentada na mastigação, expondo os tecidos mais internos de cada órgão vegetal.

Quanto à degradação do tecido epidérmico, a literatura o relaciona como sendo um tecido pouco degradado, devido às deposições sofridas em suas paredes. Relacionando este fato com a elevada porcentagem deste tecido neste órgão (Tabela 3), torna-se bastante significativa sua interferência na degradação do limbo foliar. Observando-se as Fig. 27, 29 e 31, correspondentes à primeira coleta, nota-se que o tecido epidérmico sofreu uma degradação expressiva, principalmente no tempo 48 horas de incubação e em nível das células buliformes, remanescendo por muitas vezes somente a cutícula. Já nas Fig. 28, 30 e 32, referentes à terceira coleta, observa-se a diminuição na degradação da epiderme, principalmente no cv. 309 Areia, que mesmo na primeira coleta, apresentou epiderme menos susceptível à degradação.

Como pode-se observar nas Fig. 27-A-B, 31-A e 32-B, a digestão do mesofilo teve como ponto de início a câmara sub-estomática, que situa-se logo abaixo do poro estomático. Comparando-se as Fig. 27-A em relação a 27-B, evidencia-se um movimento de entrada dos microorganismos pelo aumento desta câmara.

Apesar dos dados obtidos na anatomia quantitativa, onde a maior proporção de tecidos lignificados encontrados no limbo foliar do cv. EMPASC 307 Testa, os cultivares não apresentaram diferenças nítidas entre si.

Um fato comum aos três cultivares diz respeito à degradação da bainha parenquimática (síndrome Kranz). Esta estrutura permaneceu intacta mesmo após o tempo máximo de incubação (48 h). Apenas os feixes de pequeno porte, onde as paredes das células desta bainha ainda possuíam um pequeno espessamento parietal, sofreram ligeira degradação após 48 h de incubação (Fig. 27-C, 28-C e 30-C). Nas Fig. 27-C e 29-C, pode-se observar que houve alto grau de degradação do mesofilo e até da epiderme, mas a bainha parenquimática ainda permaneceu praticamente inalterada.

Tal resistência da bainha parenquimática à degradação foi descrita por diversos autores que avaliaram a digestibilidade em forrageiras portadoras de síndrome

Kranz (HANNA *et al.*, 1973; AKIN *et al.*, 1973, 1974 e 1983; AKIN e BURDICK, 1977 e 1981; HAKER e MINSON, 1981; WILSON, 1993).

Constatou-se que, com exceção ao cv. EMPASC 309 Areia (Fig. 31 e 32), os demais cultivares apresentaram alto grau de degradação no tempo 48 h, com leve diminuição da degradação da primeira para a segunda coleta (Fig. 27, 28, 29 e 30).

O efeito da maturidade do vegetal sobre a digestibilidade nas folhas de *Cynodon dactylon* (capim-bermuda) foi determinado por HANNA *et al.* (1976), que encontrou um pequeno decréscimo na digestibilidade com este envelhecimento.

Associando à digestibilidade de *P. purpureum* com o ciclo de pastejo, VEIGA *et al.* (1985) apresentou um gráfico revelando que a digestibilidade deste órgão cresce e tem seu pico máximo aproximadamente aos 40 dias, quando inicia-se o decréscimo desta digestibilidade.

#### **4.4.3- Degradação *in vitro* da quilha foliar**

O efeito da degradação sobre quilha foliar de *P. purpureum*, na primeira e na terceira coleta, estão representadas pelas Figuras 33 a 38.

Na quilha, diferencia-se o efeito da digestão na primeira e na terceira coleta basicamente pela diferença de coloração.

Nas Fig. 33, 35 e 37, observa-se que no geral, nos três tempos de incubação, uma predominância das tonalidades avermelhadas, que correspondem à reação do corante Fucsina Básica com as paredes de natureza lignificadas, indicando que a celulose que estava presente tenha sido digerida pela biota ruminal.

Em oposição, as Fig. 34, 36 e 38 revelam um grande número de células de tonalidade azulada, que correspondem à reação do Azul de Astra com as paredes celulares de natureza celulósica. Este remanescente de celulose, possivelmente seja

decorrente do espessamento da parede secundária, rica em lignina, que impede o acesso dos microorganismos à parede primária, celulósica.

Avaliando o capim-elefante, PLUT e WERNER (1967) determinou um aumento no teor de lignina, na planta como um todo, com a maturidade do vegetal.

A presença da parede secundária como obstáculo à digestibilidade foi tratado por ENGELS e SCHUURMANS (1992). Estes autores descreveram que, com a maturidade, forma-se a parede secundária espessa em algumas células, que dificulta a digestão, e mesmo com a sua permanência durante a digestão, a parede primária é degradada pela biota ruminal.

Também observa-se, que conforme descrito na anatomia deste órgão, a região central da quilha possui células maiores, com um ligeiro espessamento parietal, e através das Fig. 33-C, 35-C, 36-C e 37-C, todas no tempo 48 h, verifica-se que esta região central sempre permanece não digerida.

Assim como no limbo foliar, que junto com a quilha compõe a lâmina foliar como um todo, não é possível diferenciar com clareza os três cultivares, principalmente quando se utiliza como parâmetro a anatomia quantitativa.

Aparentemente, o cv. Roxo apresentou-se mais susceptível à digestão, na primeira coleta, mesmo a partir de 24 h de incubação, enquanto os demais cultivares apresentam-se semelhantes.

Na quilha foliar, assim como descrito no limbo, a presença dos estômatos tem um comportamento importante na digestão do mesofilo. Em quase todas as figuras, principalmente no tempo 24 h, é bem nítido um aglomerado de biomassa microbiana, de coloração avermelhada, logo abaixo da epiderme abaxial e entre os feixes vasculares. Estes aglomerados estão localizados exatamente na região onde havia as câmaras sub-estomáticas.

#### 4.4.4- Degradação *in vitro* do caule

O efeito da degradação sobre o caule de *P. purpureum*, na primeira e na terceira coleta, estão representadas na seqüência das Figuras 39 a 43.

O caule foi, de todos os órgãos estudados neste trabalho, o que apresentou o efeito da maturidade do vegetal com maior clareza.

O caule foi o órgão que mais sofreu danos durante o processo de degradação e emblocamento, já que os demais órgãos possuíam a epiderme das duas faces sustentando o mesofilo. No caule, devido às suas dimensões, desde as coletas de campo foram seccionados em formato de “fatia de pizza”, e portanto, com a digestão do parênquima, todos os feixes se desprenderam e foram perdidos durante o manuseio das frações. Devido a este fato, o cv. EMPASC 307 Testo não está representado na primeira coleta.

Mesmo assim, nas Fig. 40 e 42, que correspondem à primeira coleta, nota-se que na Fig. 40-A encontra-se ainda alguns grupos de células floemáticas, com tonalidade azulada, que desapareceram nos tempos 24 h (Fig. 40-B) e 48 h (Fig. 40-C), onde permaneceu apenas a epiderme (até 24 h) e no tempo 48 h, somente estruturas componentes do xilema e células parenquimáticas com paredes mais espessadas permaneceram.

Na Fig. 42-A observa-se ainda a epiderme íntegra e muitas células parenquimáticas, porém em início de degradação. O floema não está mais presente, restando dos tecidos condutores quase que somente elementos traqueais pertencentes ao xilema. No estágio B (24 h), muitas células parenquimáticas foram totalmente digeridas, o mesmo ocorreu com a epiderme, permanecendo somente os elementos traqueais, que possuem um espessamento parietal espiralado ou anular.

Nas Fig. 39, 41 e 43, correspondendo à terceira coleta, somente o cv. EMPASC 307 Testo, o qual apresenta menor porcentagem de tecidos lignificados, apresentou degradação mais significativa nos tempos 24 e 48 h (Fig. 39-A, B,C). Os demais cultivares, principalmente o cv. EMPASC 309 Areia (Fig. 43), sofreram apenas a degradação das células parenquimáticas mais internas do caule (medula), as quais apresentaram-se menos espessadas. O floema foi o tecido mais atacado, conforme também foi demonstrado por outros autores (AKIN *et al.*, 1973; HANNA *et al.*, 1973; AKIN e BURDICK, 1975; HACKER e MINSON, 1981; AKIN, 1982; WILSON, 1993).

A diminuição da digestibilidade *in vitro* com o envelhecimento do caule de *Cynodon dactylon* (capim-bermuda), foi observado por HANNA *et al.* (1976).

Estudando a digestibilidade associada ao ciclo de pastejo em *P. purpureum*, VEIGA *et al.* (1985), constataram que a digestibilidade aumentou gradativamente até o 28º dia após o rebrote, onde teve seu ponto máximo, sendo que após este tempo, iniciou-se o decréscimo da digestibilidade.

O estudo de LENTZ e BUXTON (1992) avaliou a digestibilidade do caule juntamente com a bainha foliar que o recobre, e determinou que a digestibilidade destes órgãos foi 49% maior no material jovem do que no mais velho.

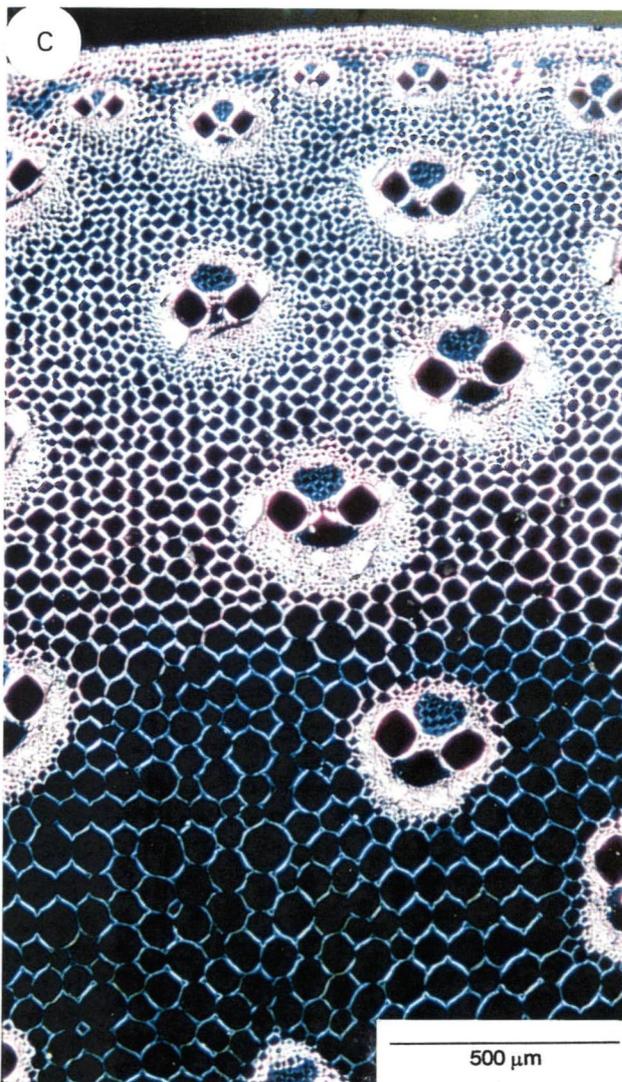
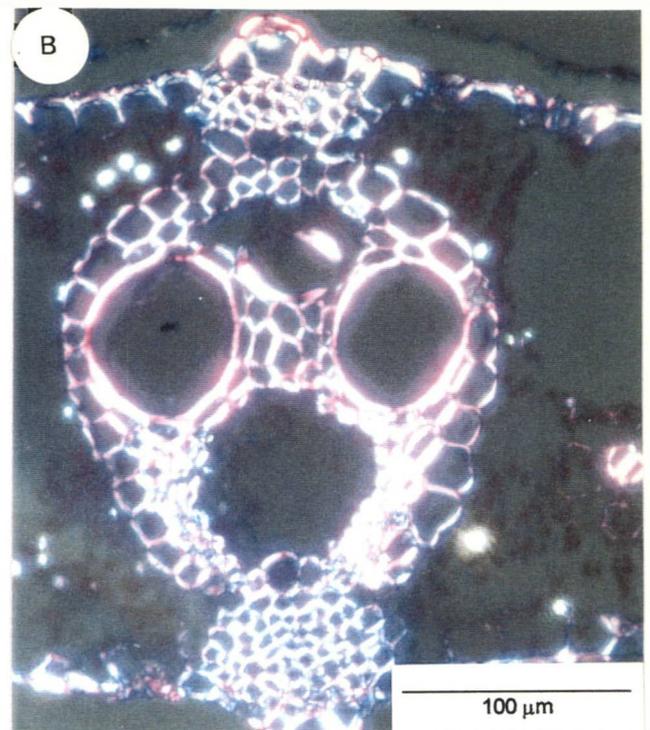
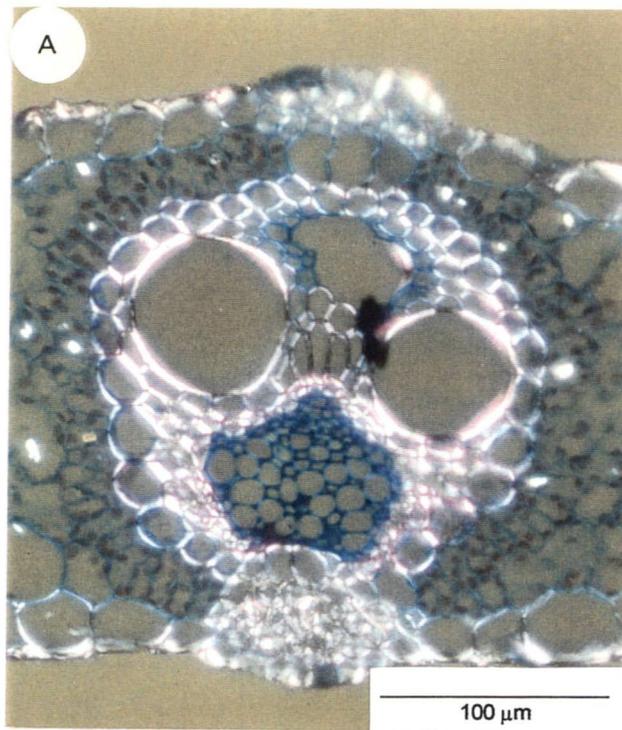
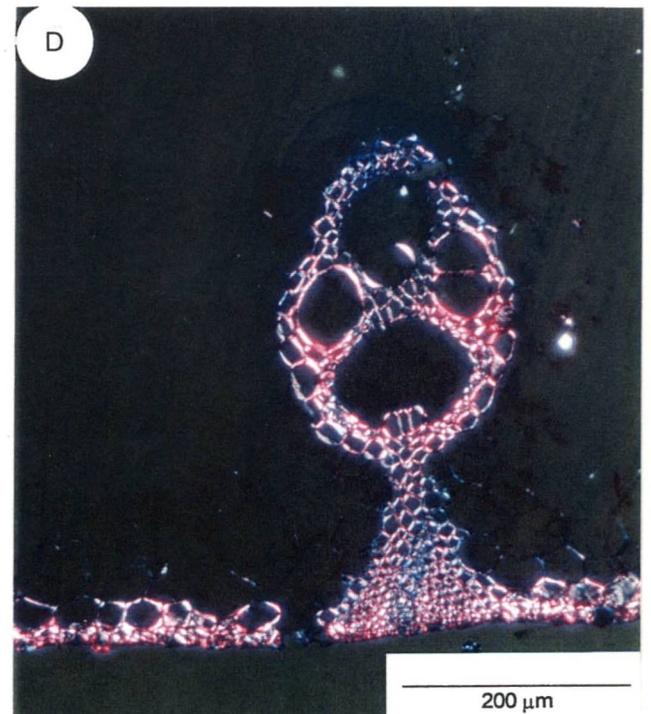
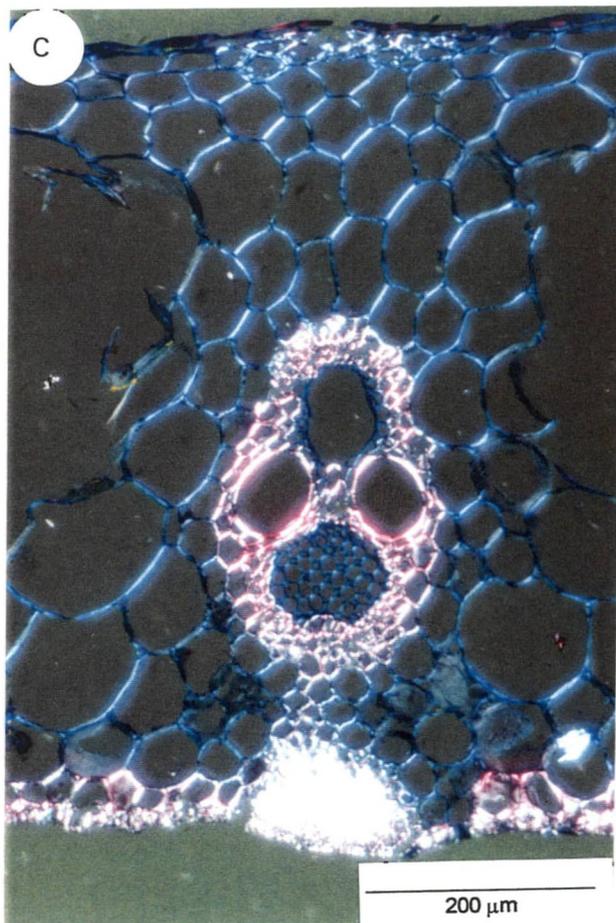
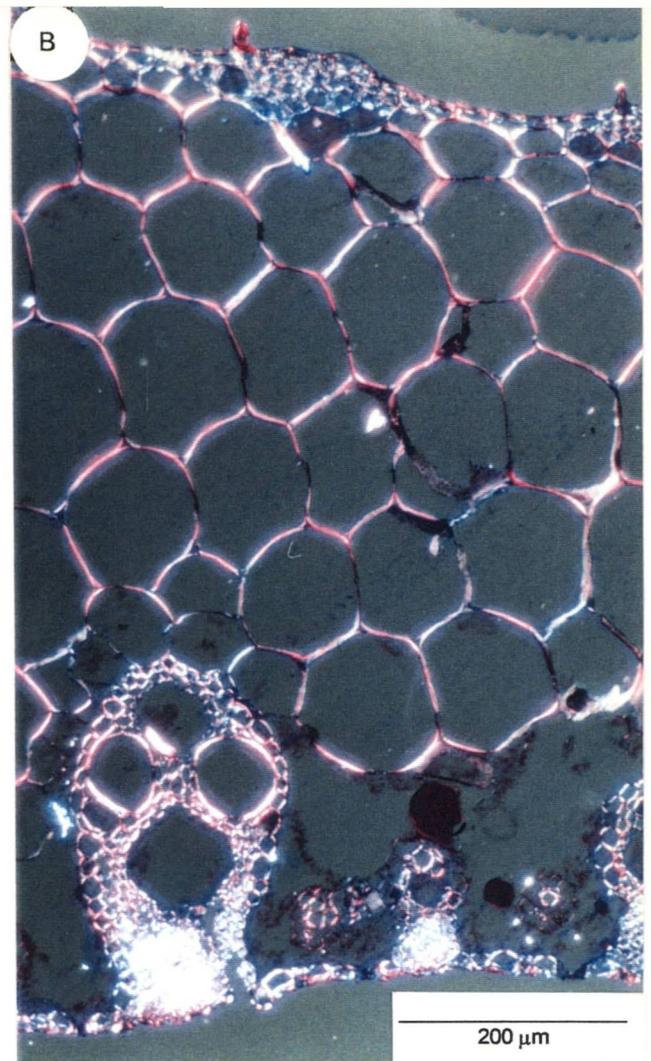
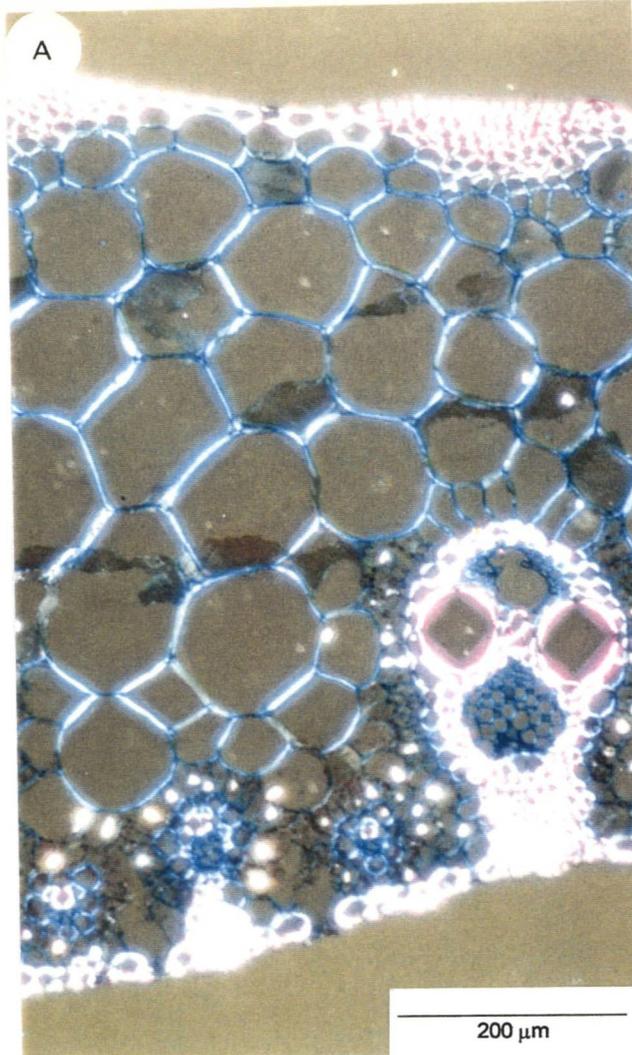
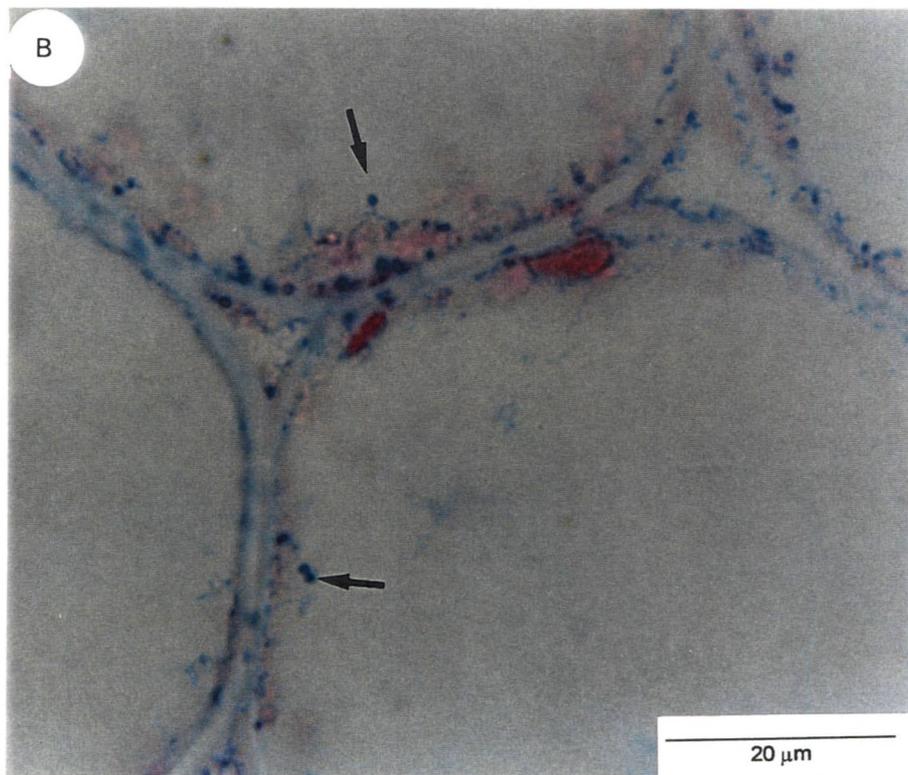
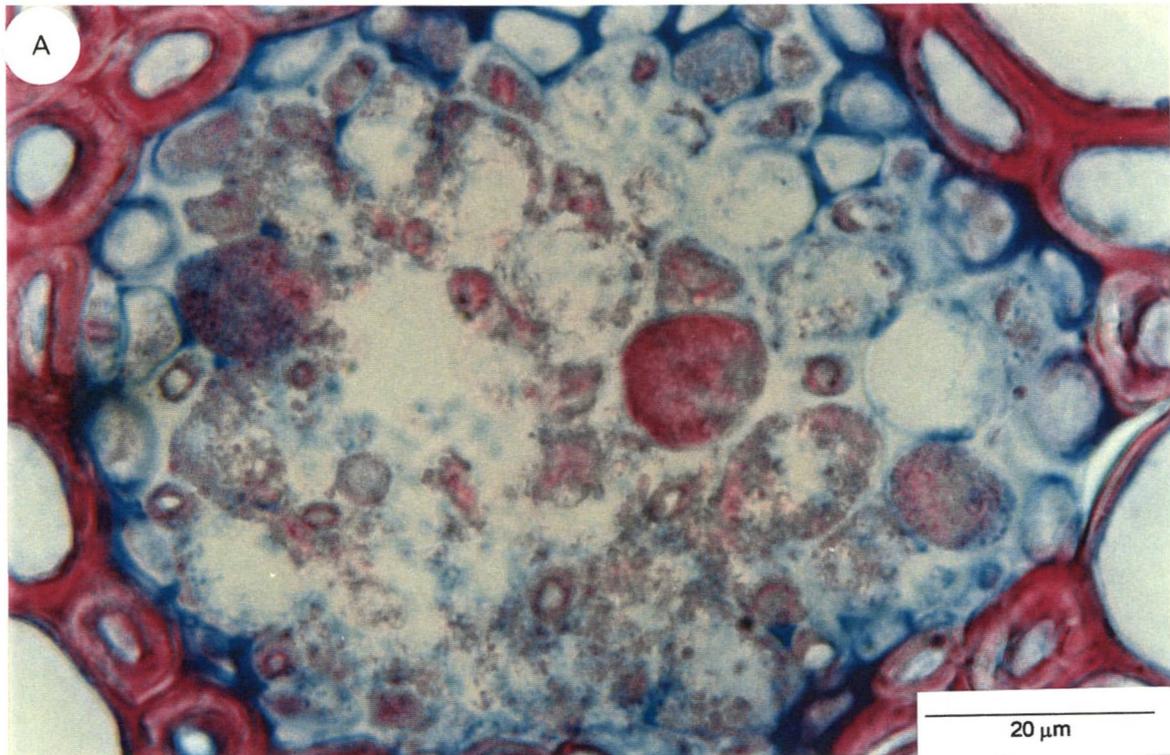


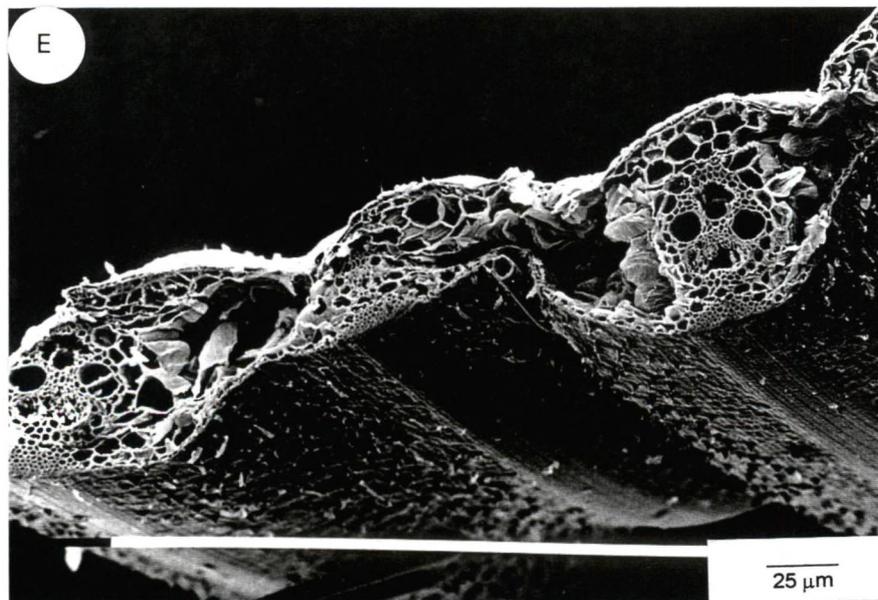
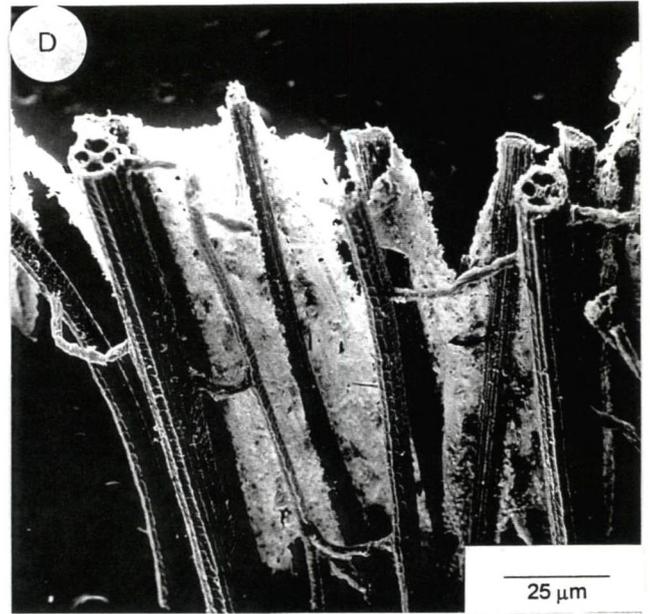
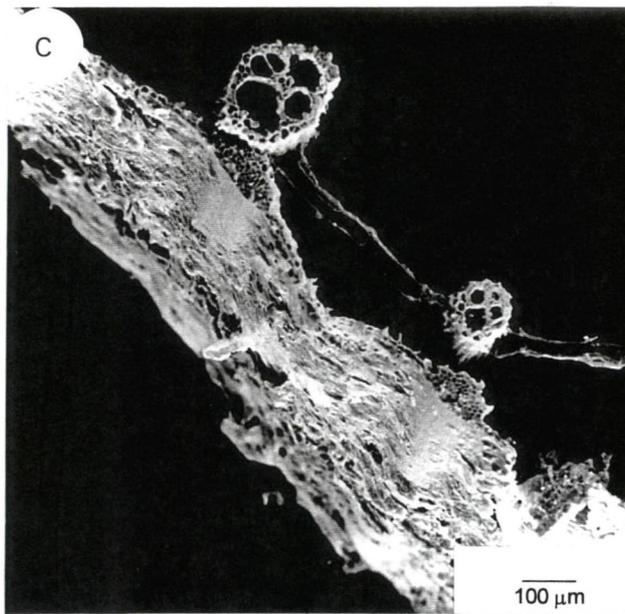
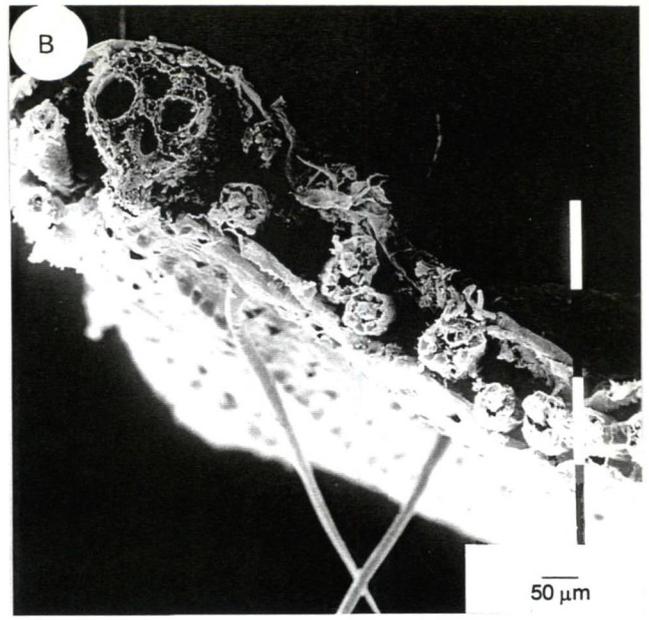
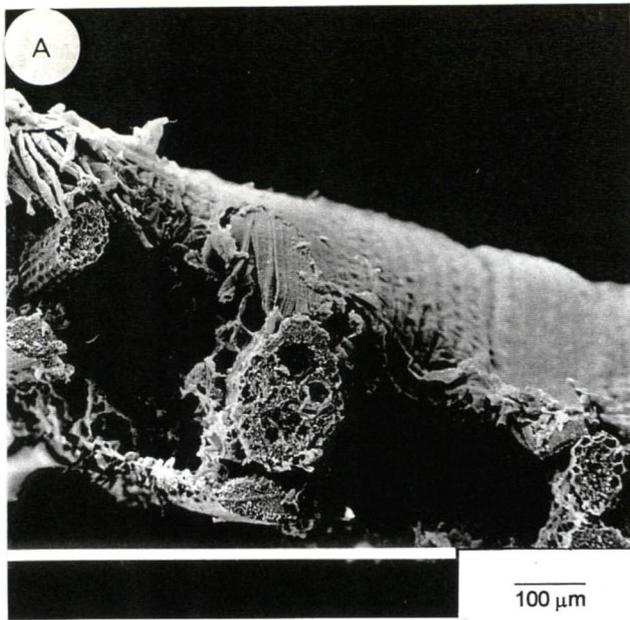
Fig. 17- Secções transversais de *P. purpureum*. A- Feixe de grande porte do limbo foliar não submetido à incubação; B- Idem fig. anterior, após digestão por 48 h.; C- Secção do caule não submetido à incubação; D- Idem a fig. anterior, após digestão por 48 h. (MF)



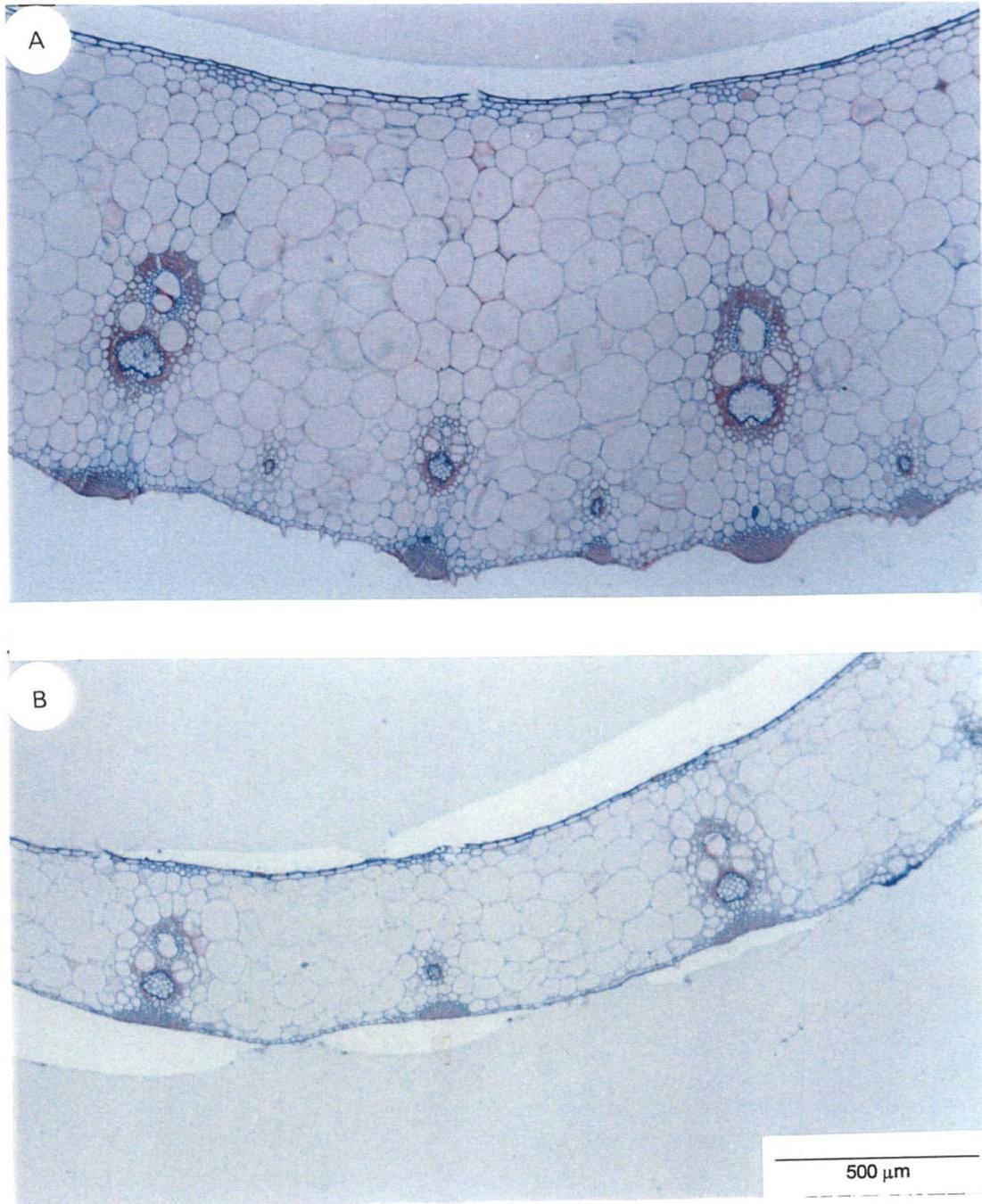
**Fig. 18-** Secções transversais de *P. purpureum*. **A-** Região da quilha foliar não submetida à digestão *in vitro*; **B-** Idem a fig. anterior, após 48 h de incubação em líquido ruminal; **C-** Bainha foliar não submetida à incubação; **D-** Idem a fig. anterior, após 48 h sob digestão *in vitro*. (MF)



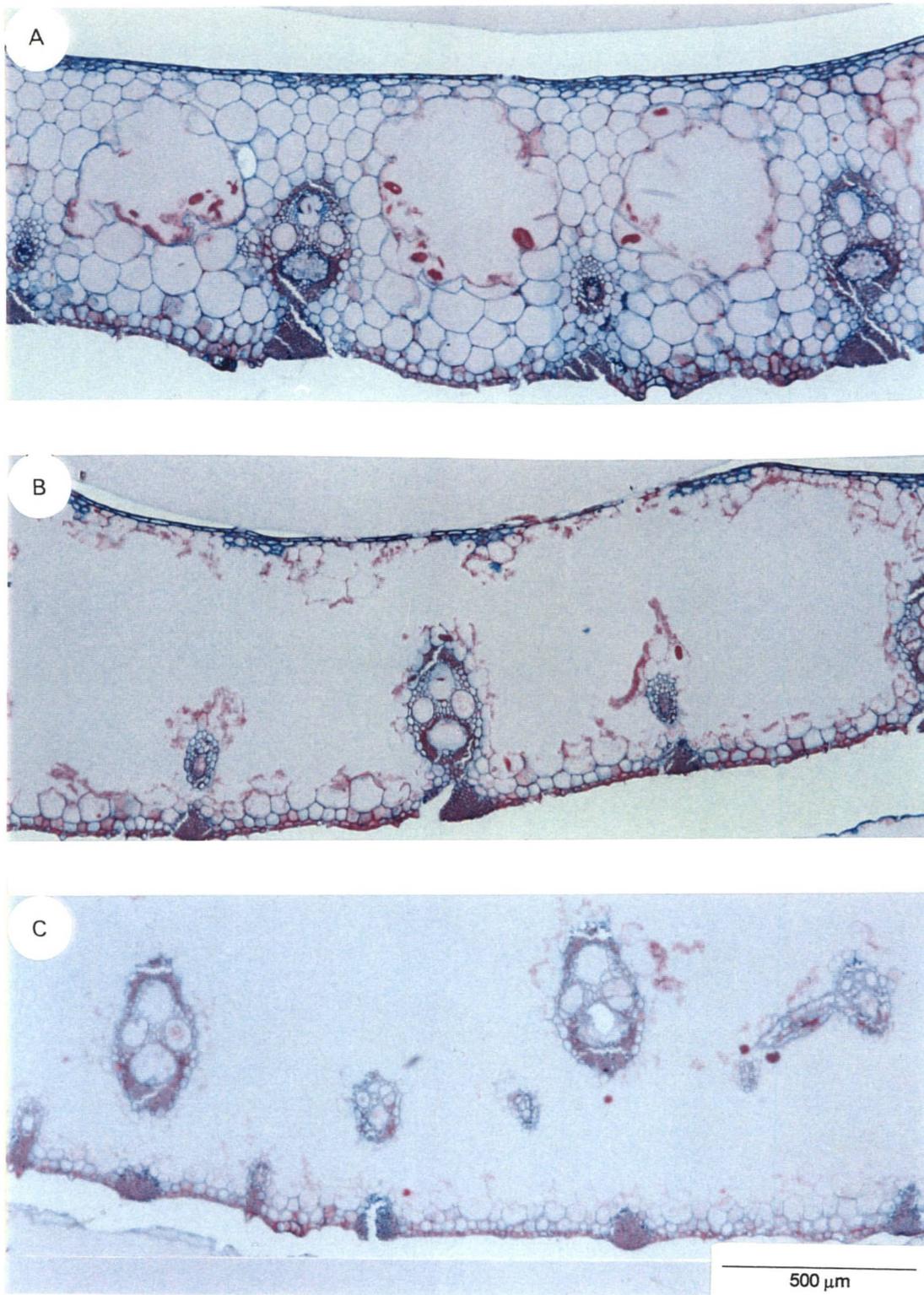
**Fig. 19-** Secções transversais da bainha foliar de *P. purpureum* após 48 h de incubação em líquido ruminal. **A-** Região do floema em grande estágio de degradação; **B-** Células parenquimáticas do mesofilo com paredes atacadas pelos microorganismos e com grande quantidade de massa microbiana aderida às paredes. (MF)



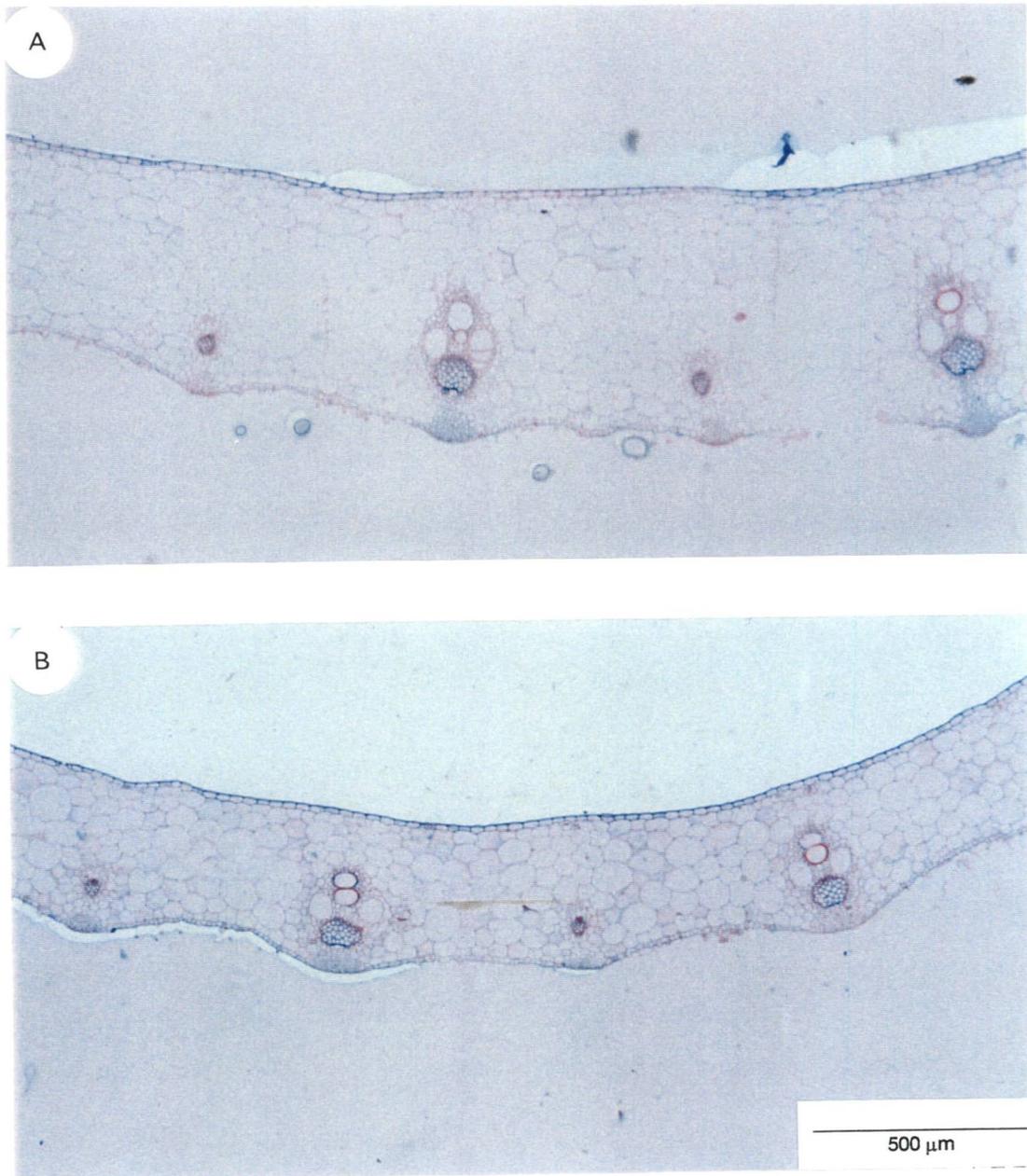
**Fig. 20-** Secções transversais de *P. purpureum*. **A-** Bainha foliar após 24 h de incubação em líquido ruminal de bovinos; **B-** Limbo foliar, após 48 h de incubação; **C-** Bainha foliar após 48 h de incubação, destacando-se feixes transversais que interconectam os longitudinais; **D-** Idem a fig. anterior, após 48 h de incubação, revelando os feixes líbero-lenhosos aderidos à epiderme da face abaxial; **E-** Idem a fig. anterior, após 24 h de incubação (MEV).



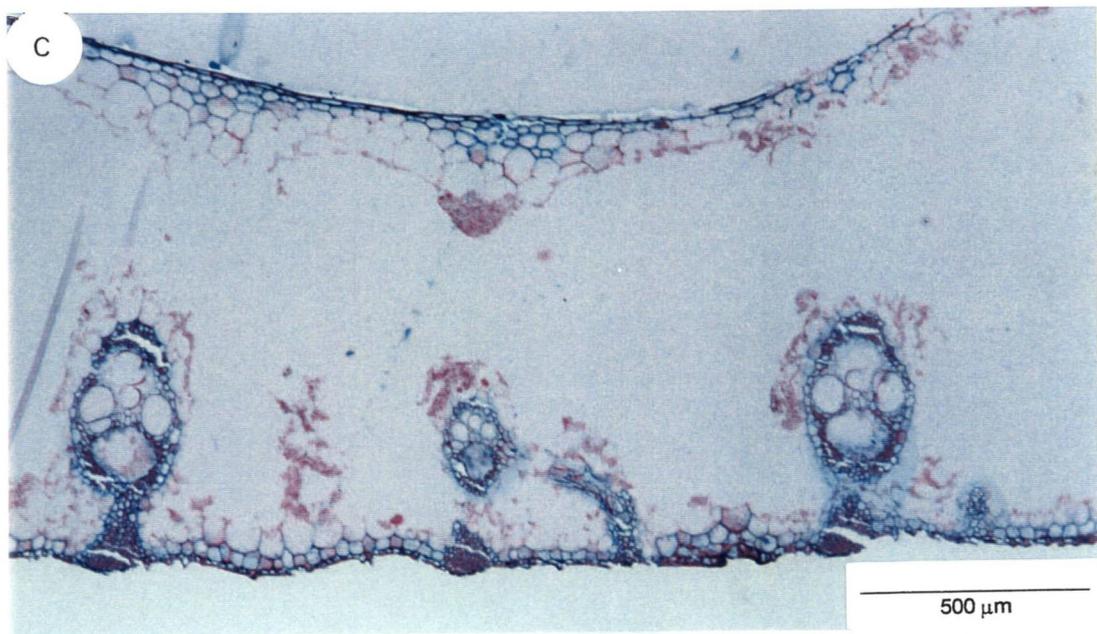
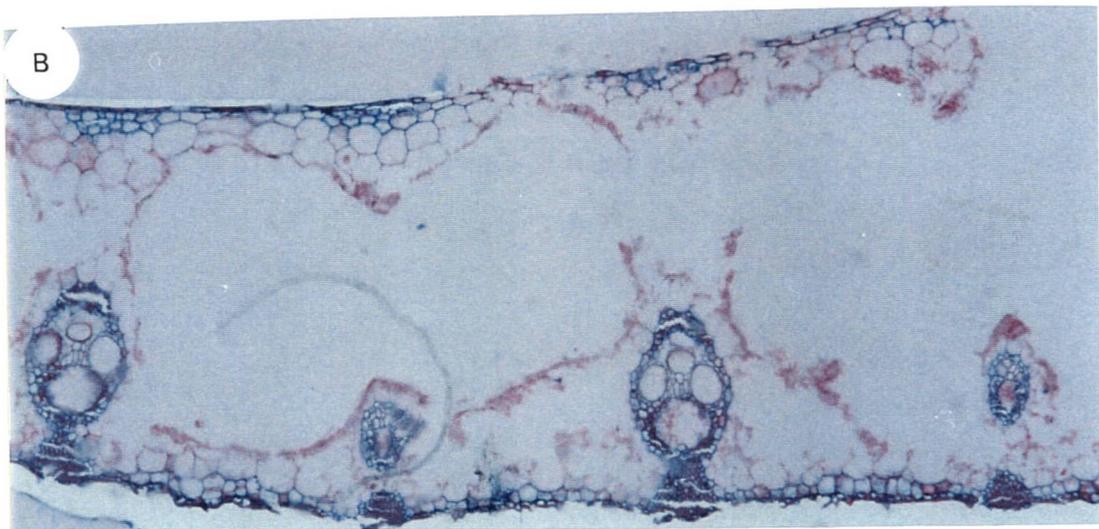
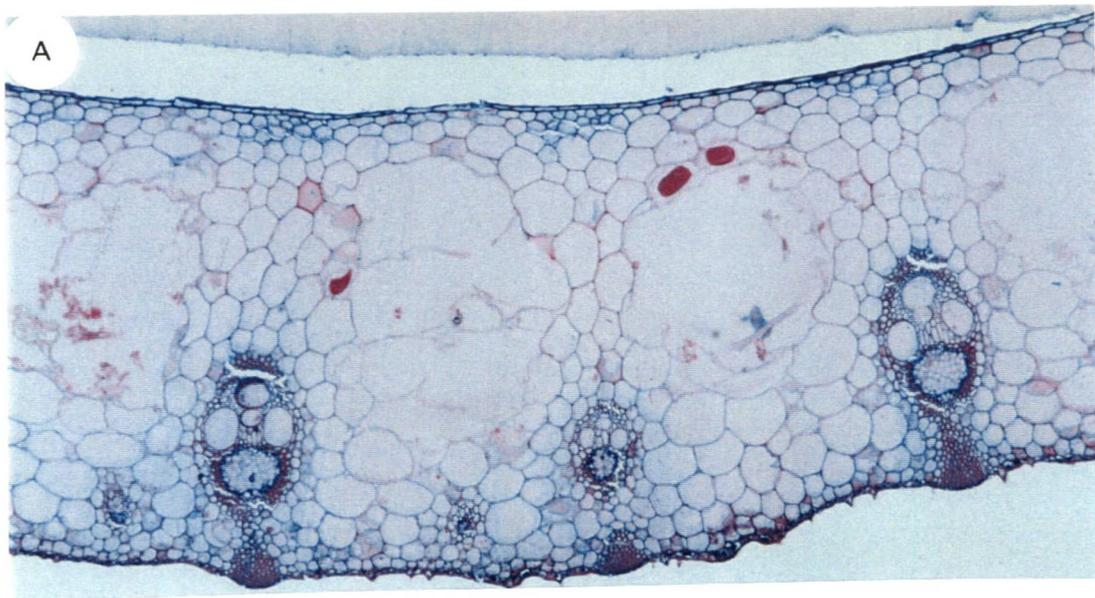
**Fig. 21-** Secções transversais da bainha foliar de *P. purpureum* cv. Empasc 307 Testa, da primeira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h. (MF)



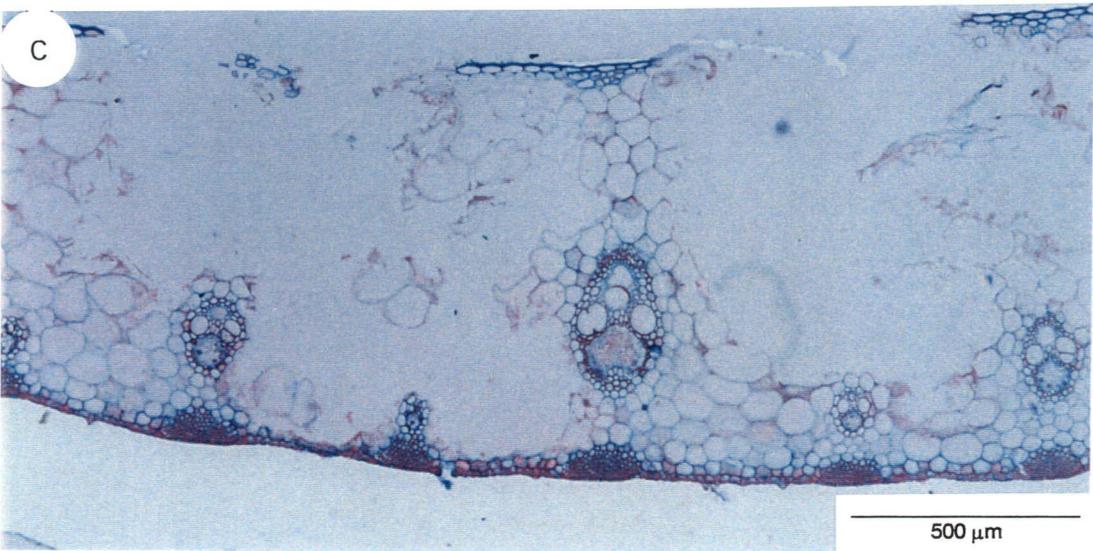
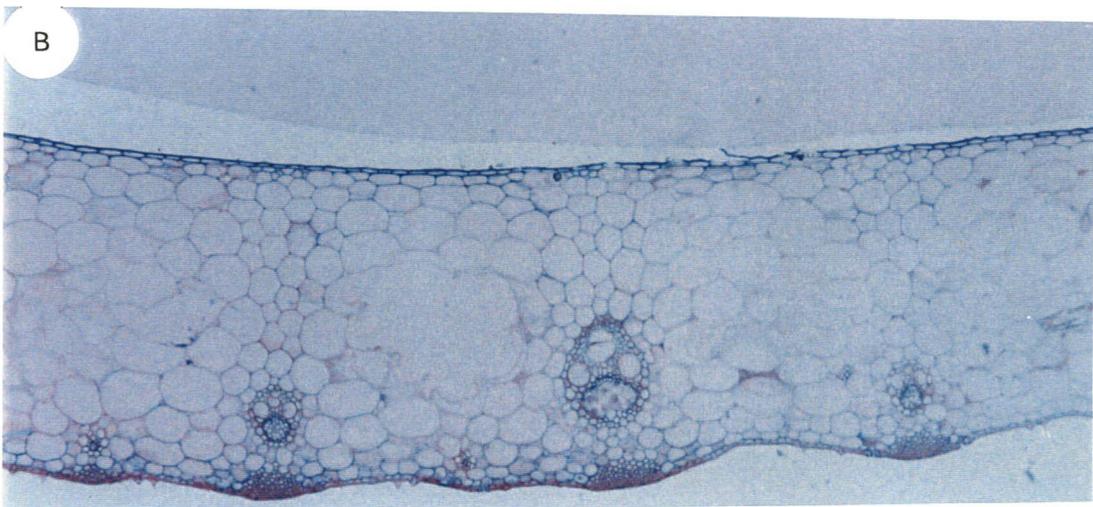
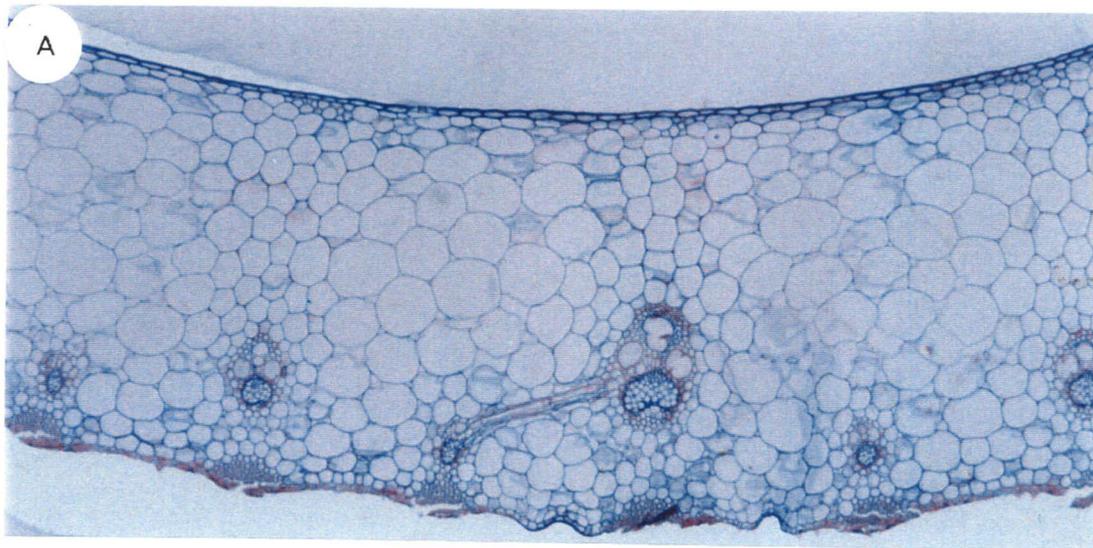
**Fig. 22-** Secções transversais da bainha foliar de *P. purpureum* cv. Empasc 307 Testo, da terceira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)



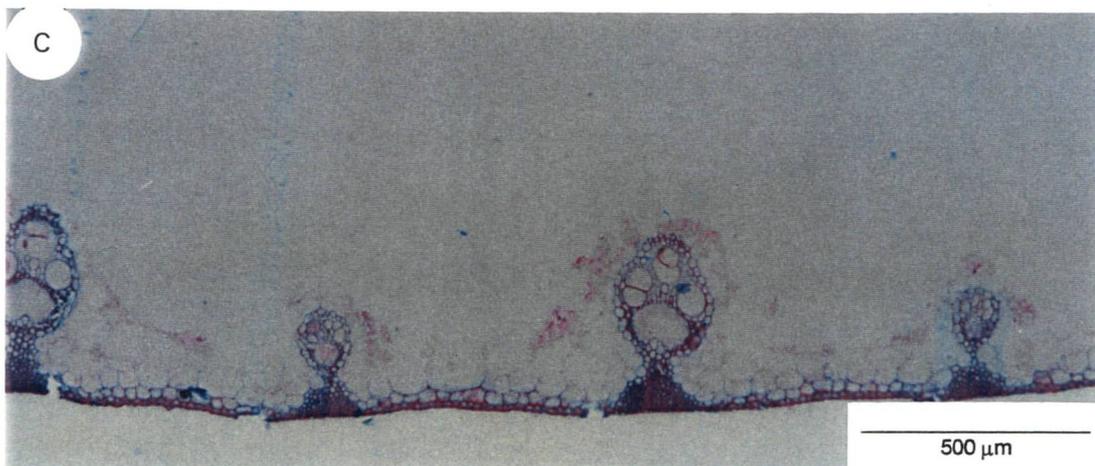
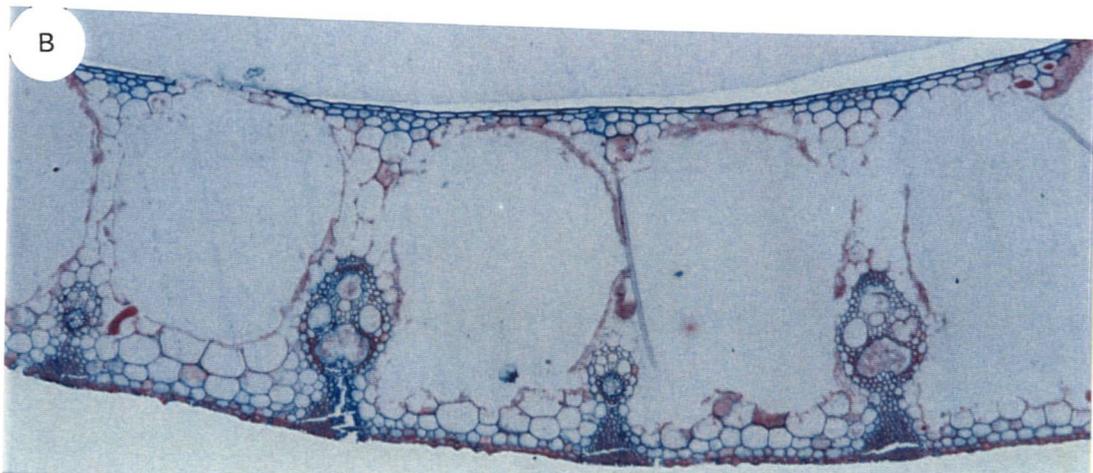
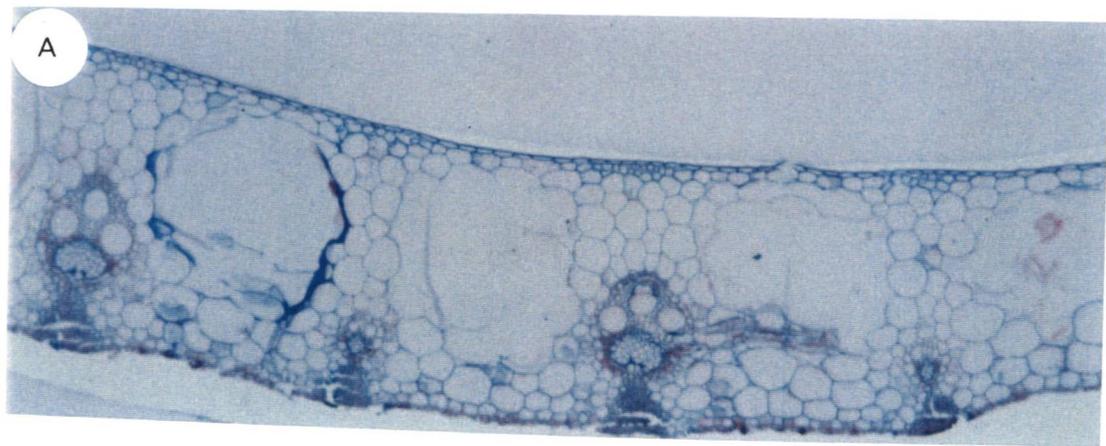
**Fig. 23-** Secções transversais da bainha foliar de *P. purpureum* cv. roxo, da primeira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h. (MF)



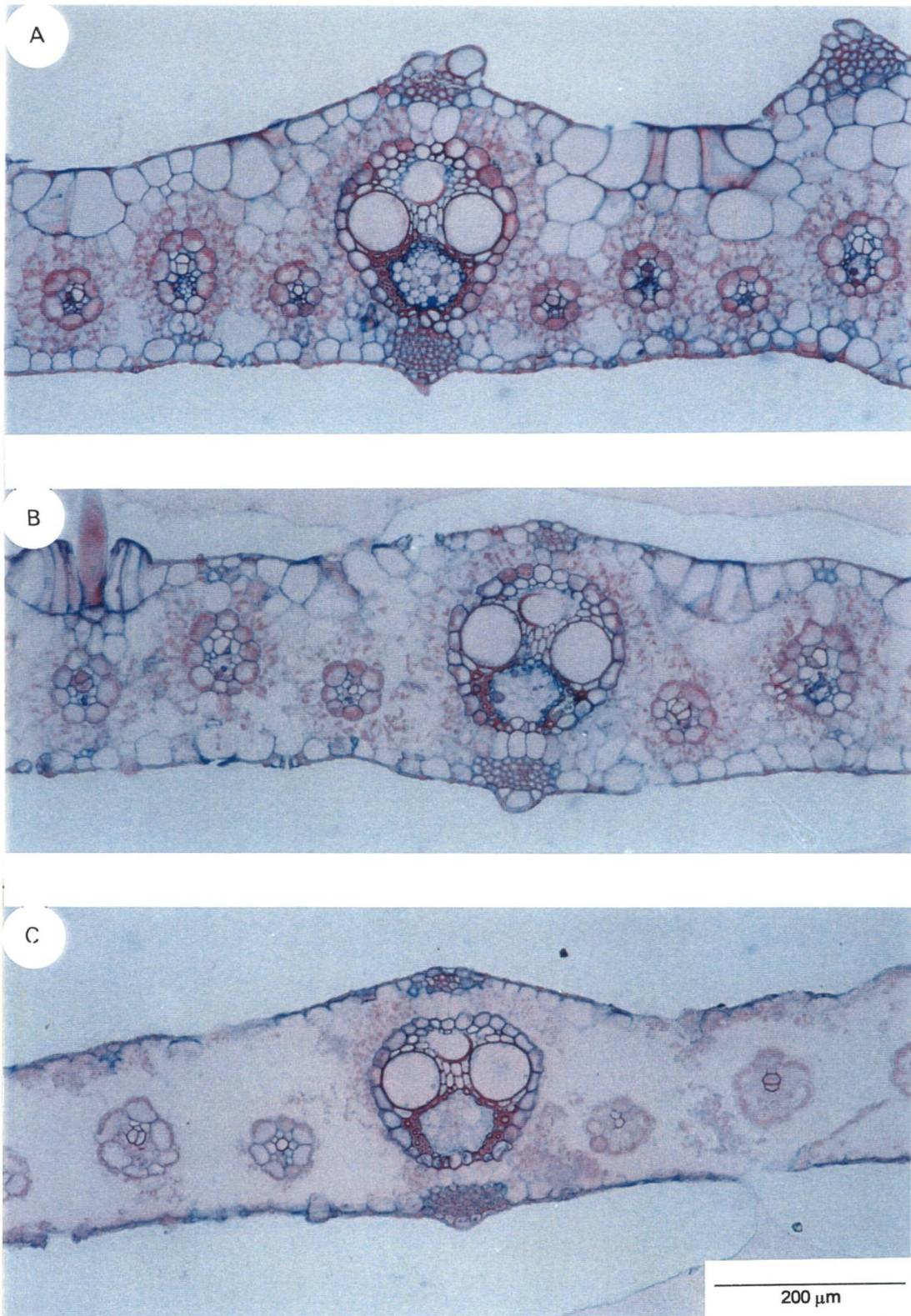
**Fig. 24-** Secções transversais da bainha foliar de *P. purpureum* cv. roxo, da terceira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)



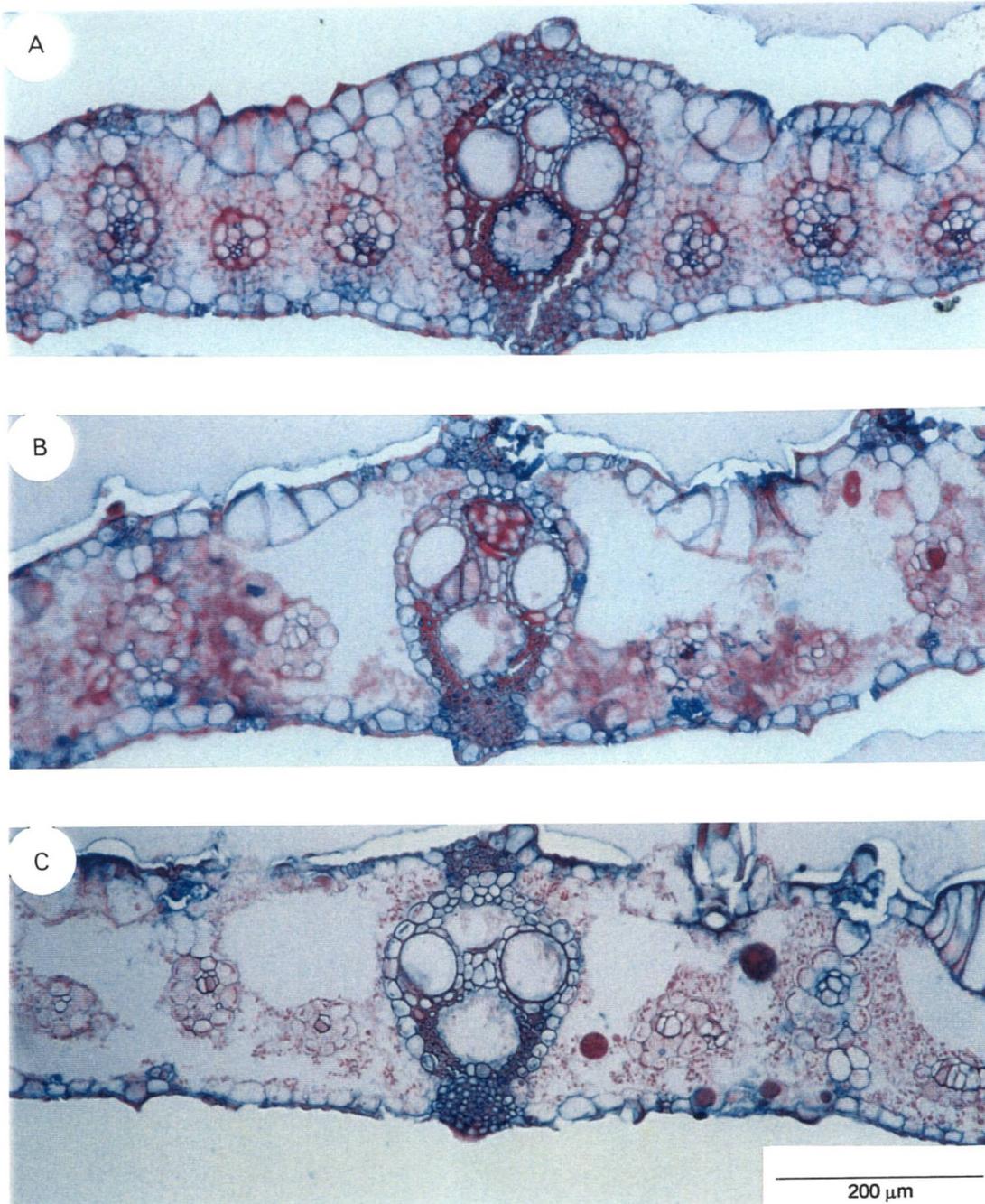
**Fig. 25-** Secções transversais da bainha foliar de *P. purpureum* cv. Empasc 309 Areia, da primeira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)



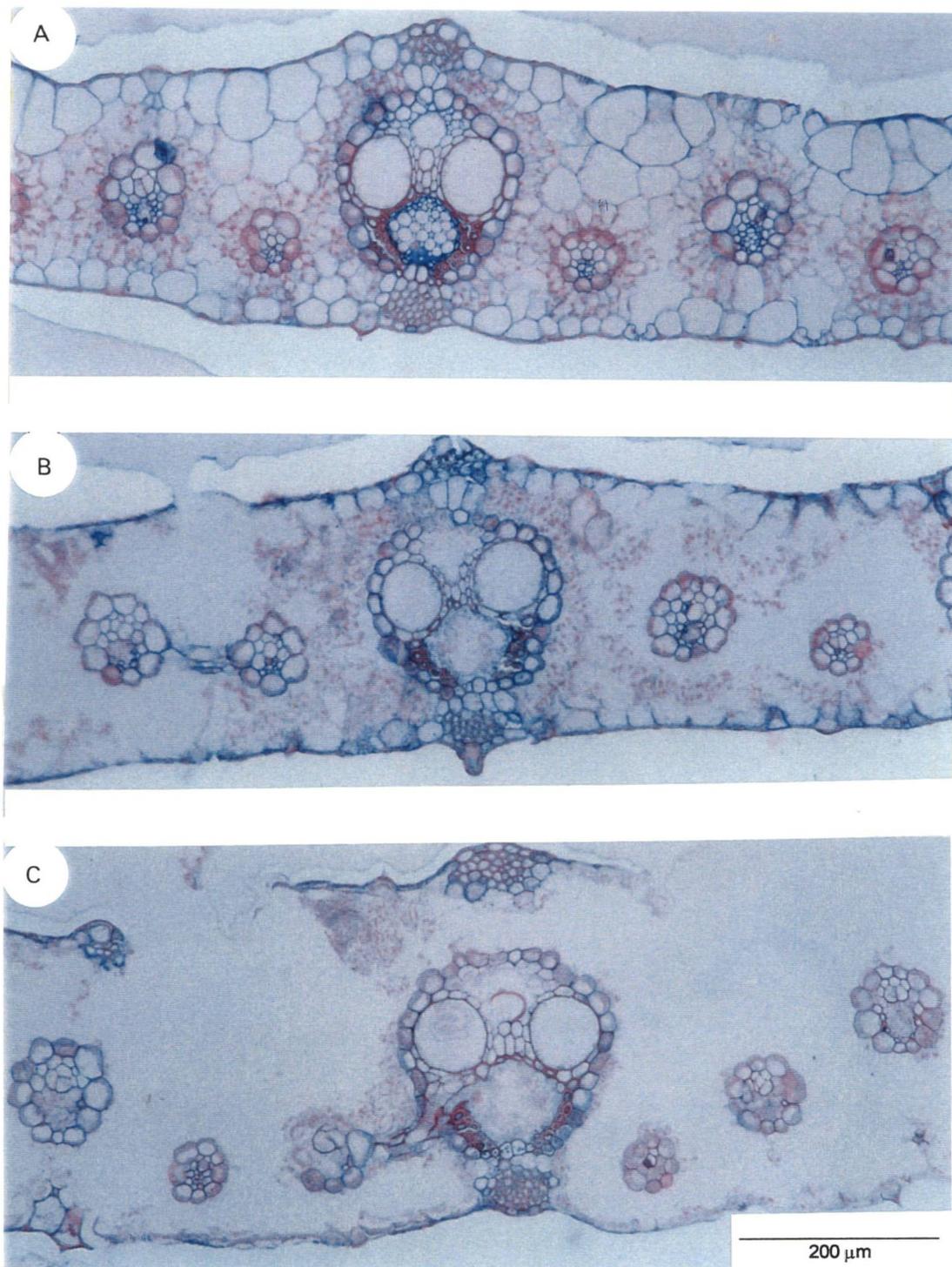
**Fig. 26-** Secções transversais da bainha foliar de *P. purpureum* cv. Empasc 309 Areia, da terceira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)



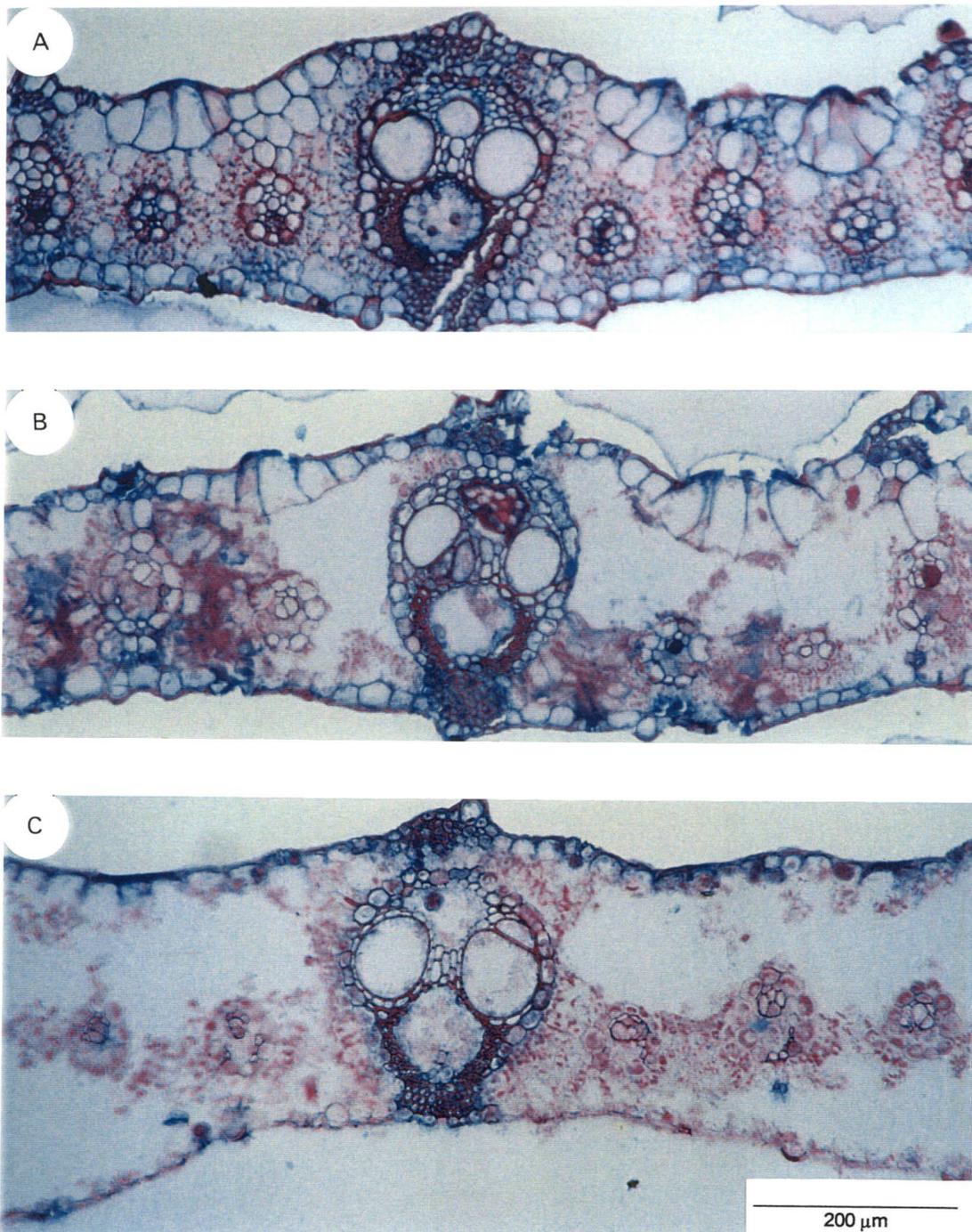
**Fig. 27-** Secções transversais do limbo foliar de *P. purpureum* cv. Empasc 307 Testa, da primeira coleta. A- Após 6h sob digestão *in vitro*; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF)



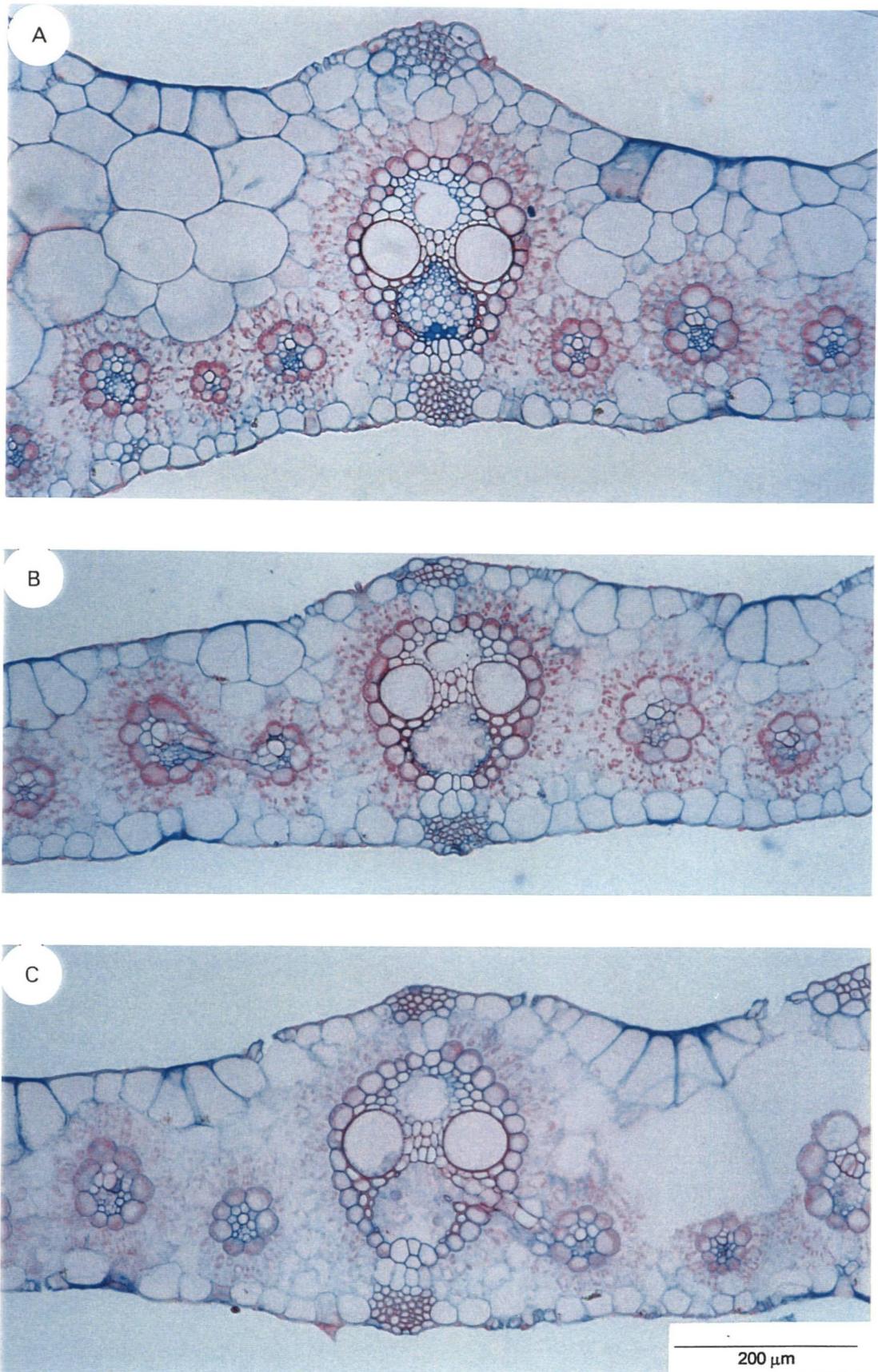
**Fig. 28-** Secções transversais do limbo foliar de *P. purpureum* cv. Empasc 307 Testa, da terceira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)



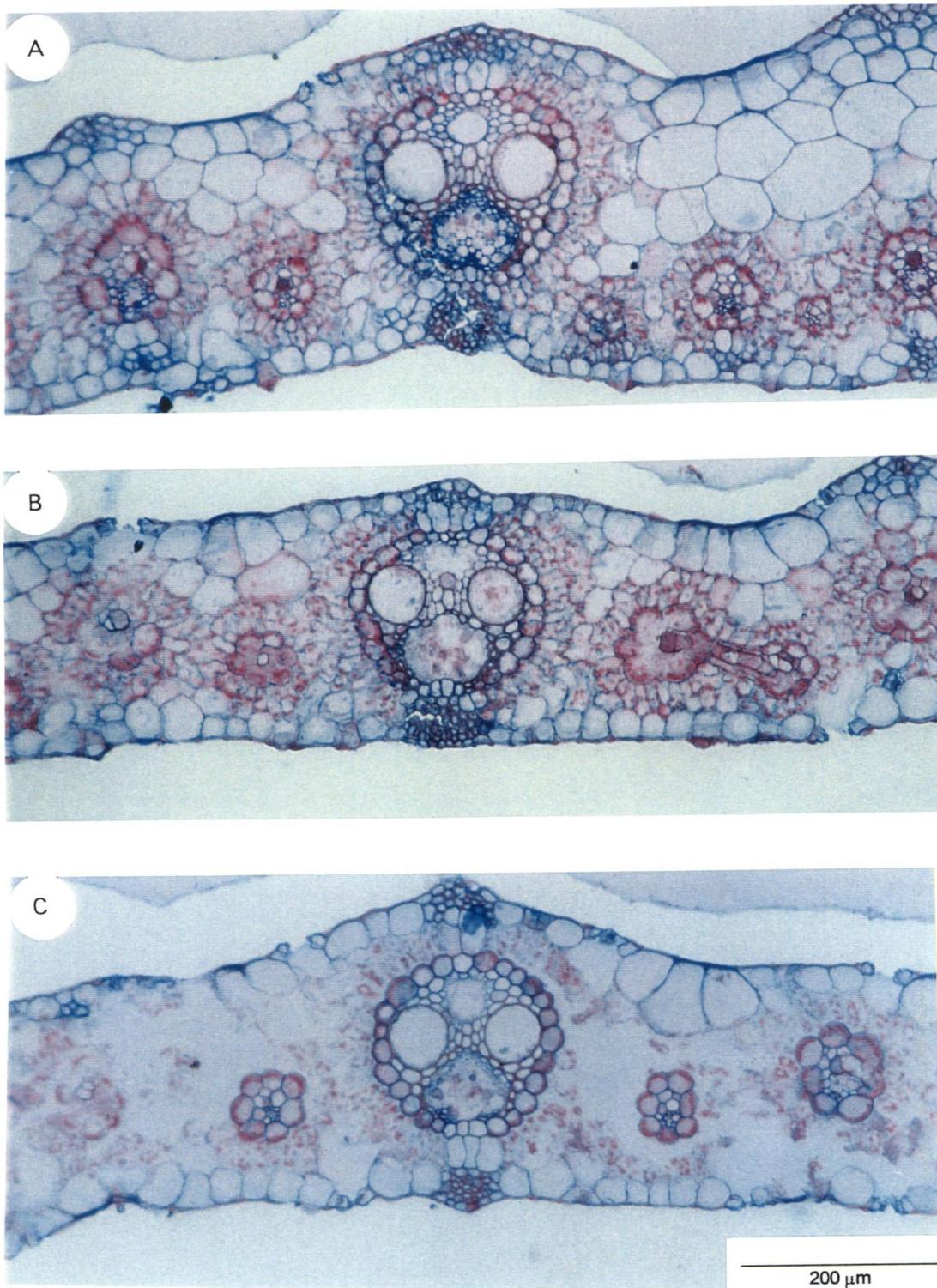
**Fig. 29-** Seções transversais do limbo foliar de *P. purpureum* cv. roxo, da primeira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)



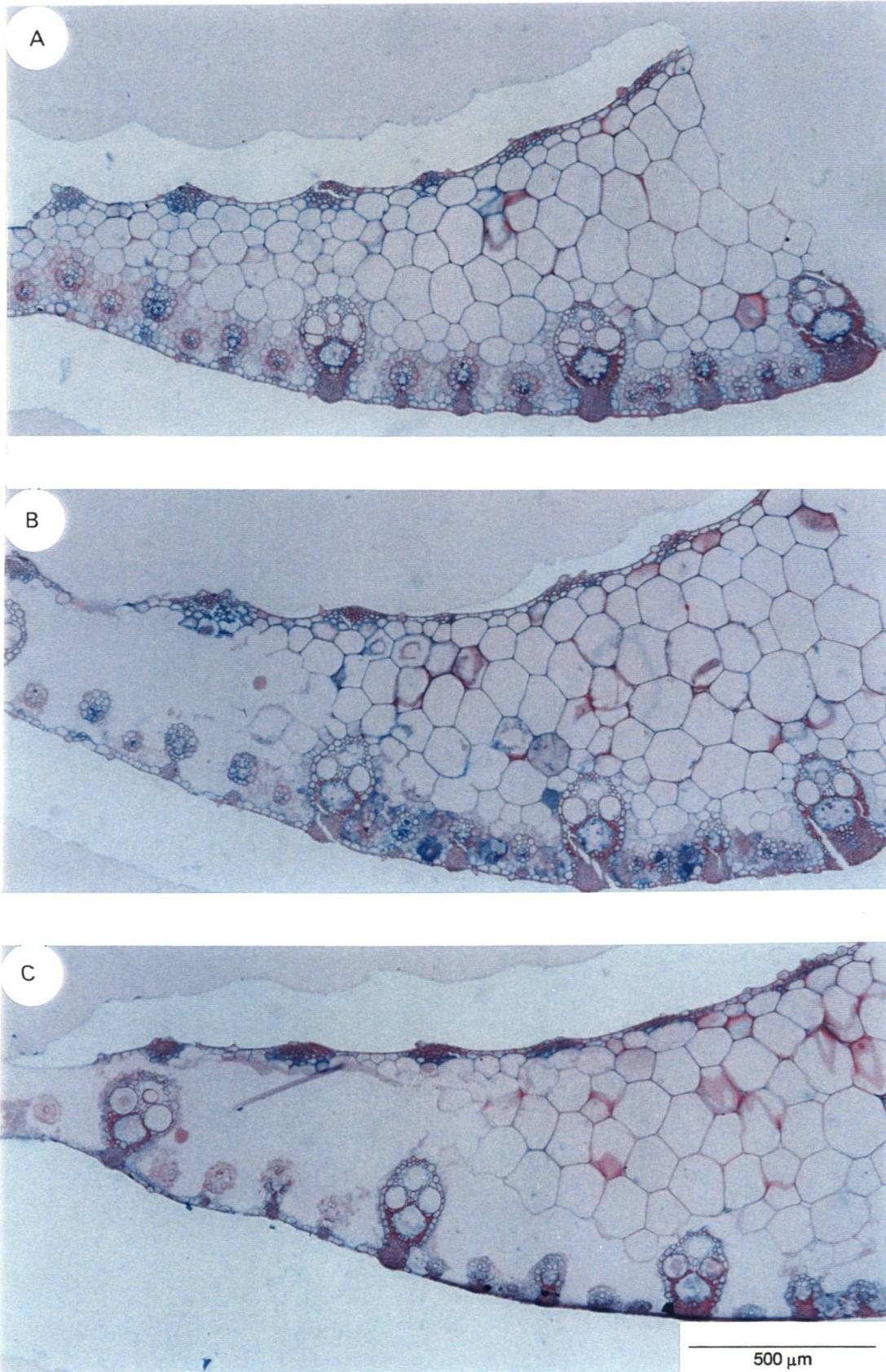
**Fig. 30-** Secções transversais do limbo foliar de *P. purpureum* cv. roxo, da terceira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)



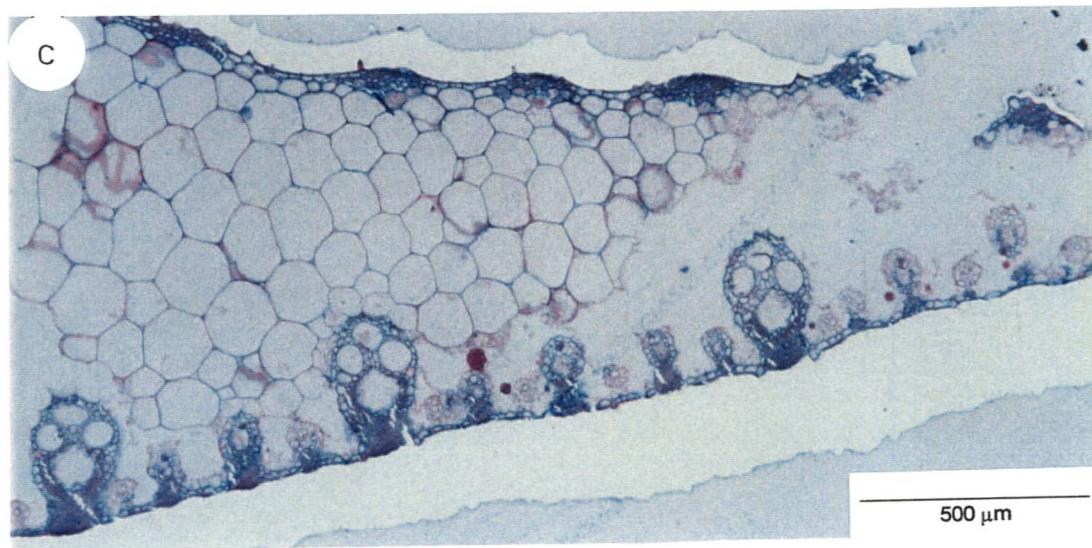
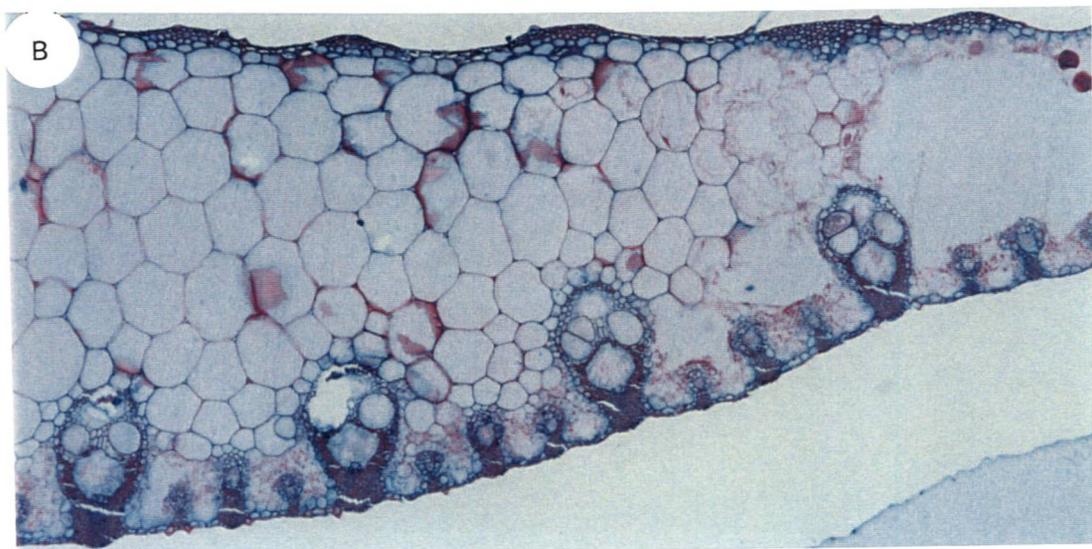
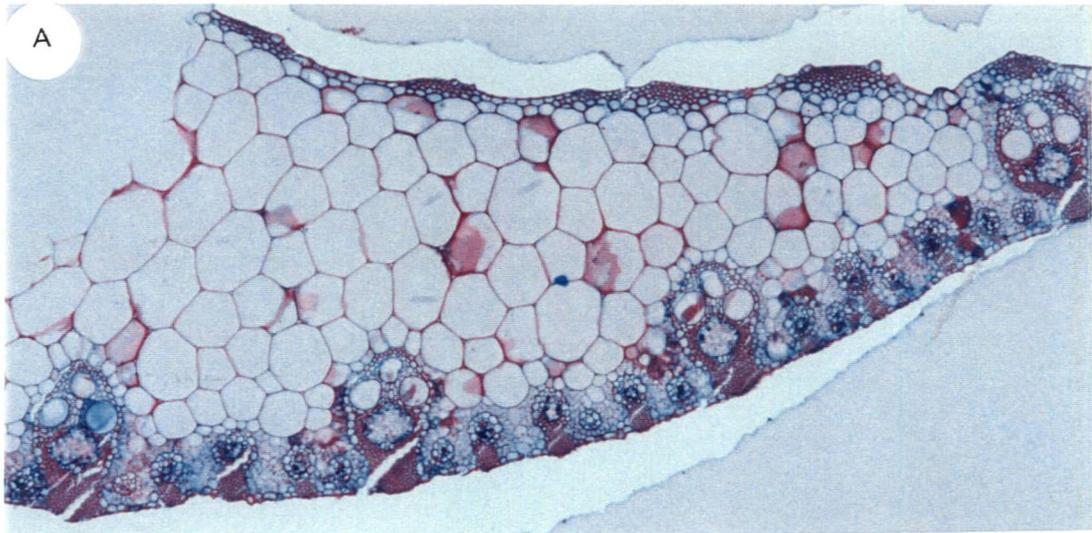
**Fig. 31-** Secções transversais do limbo foliar de *P. purpureum* cv. Empasc 309 Areia, da primeira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)



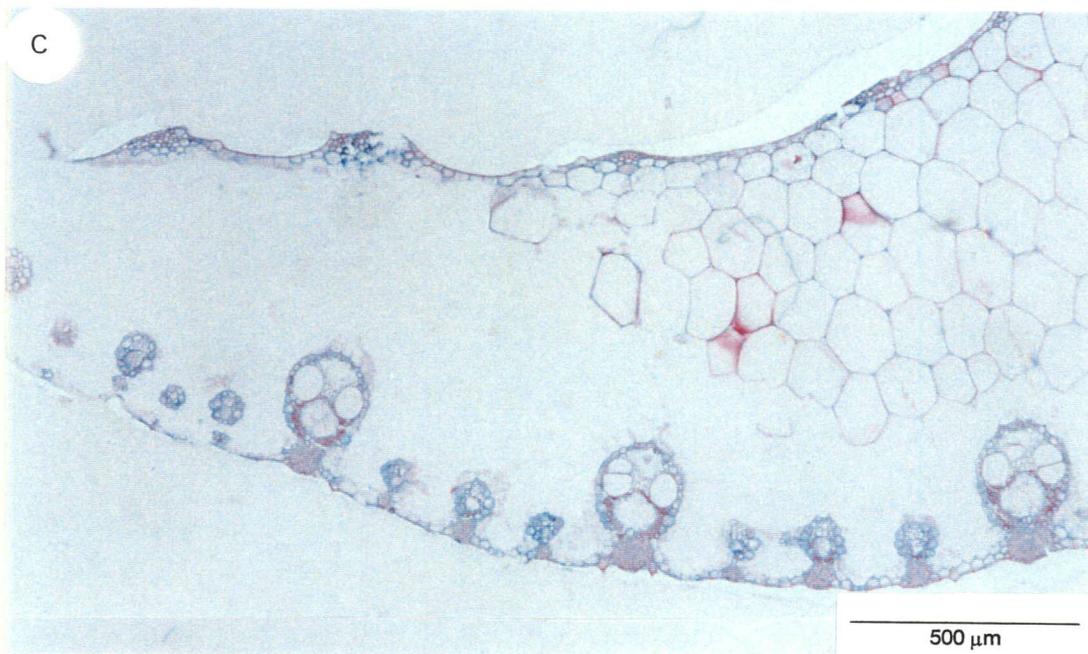
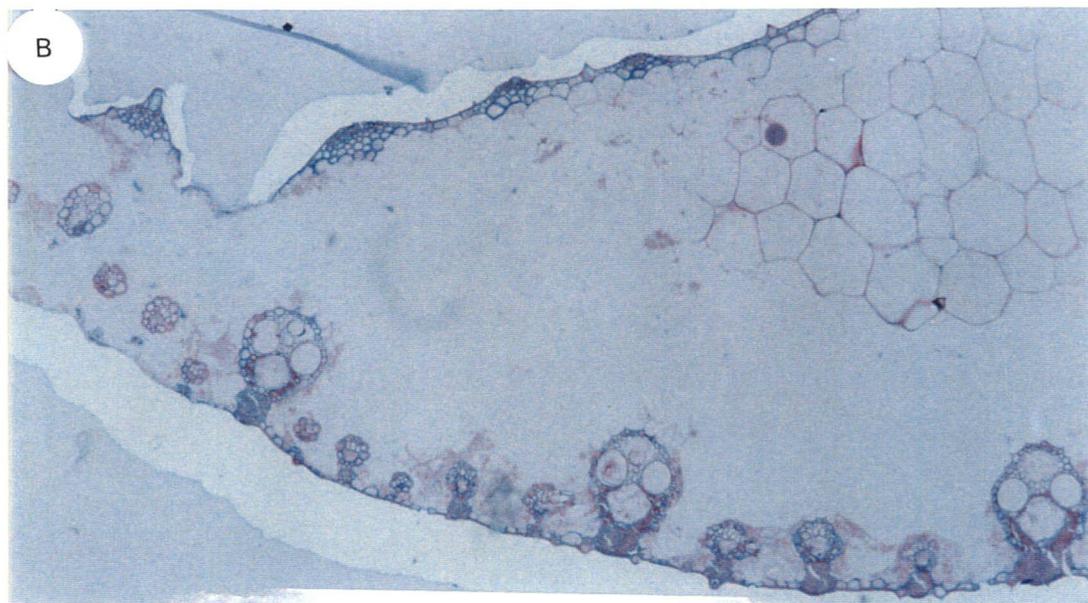
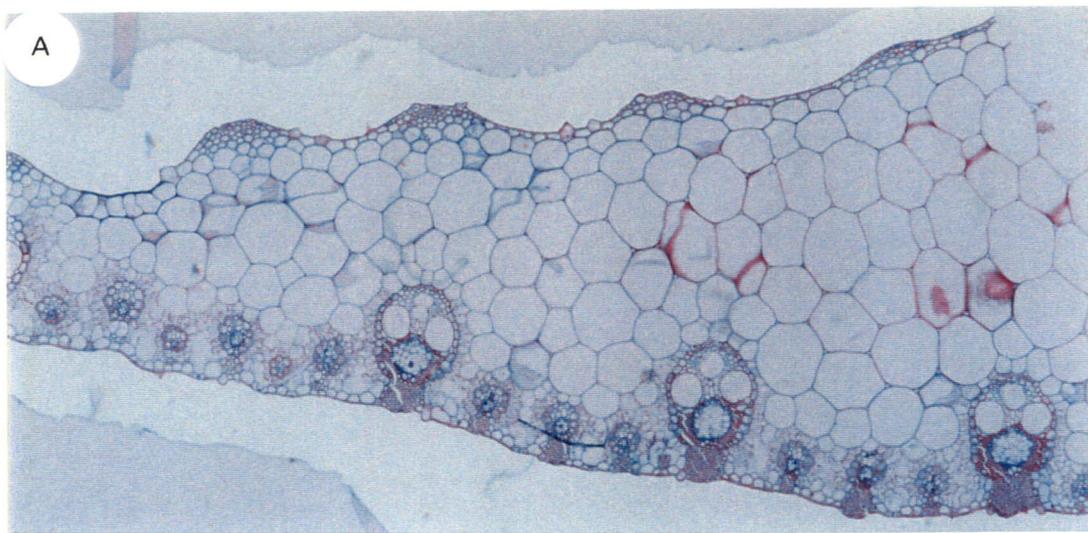
**Fig. 32-** Secções transversais do limbo foliar de *P. purpureum* cv. Empasc 309 Areia, da terceira coleta. A- Após 6h sob digestão *in vitro*; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF)



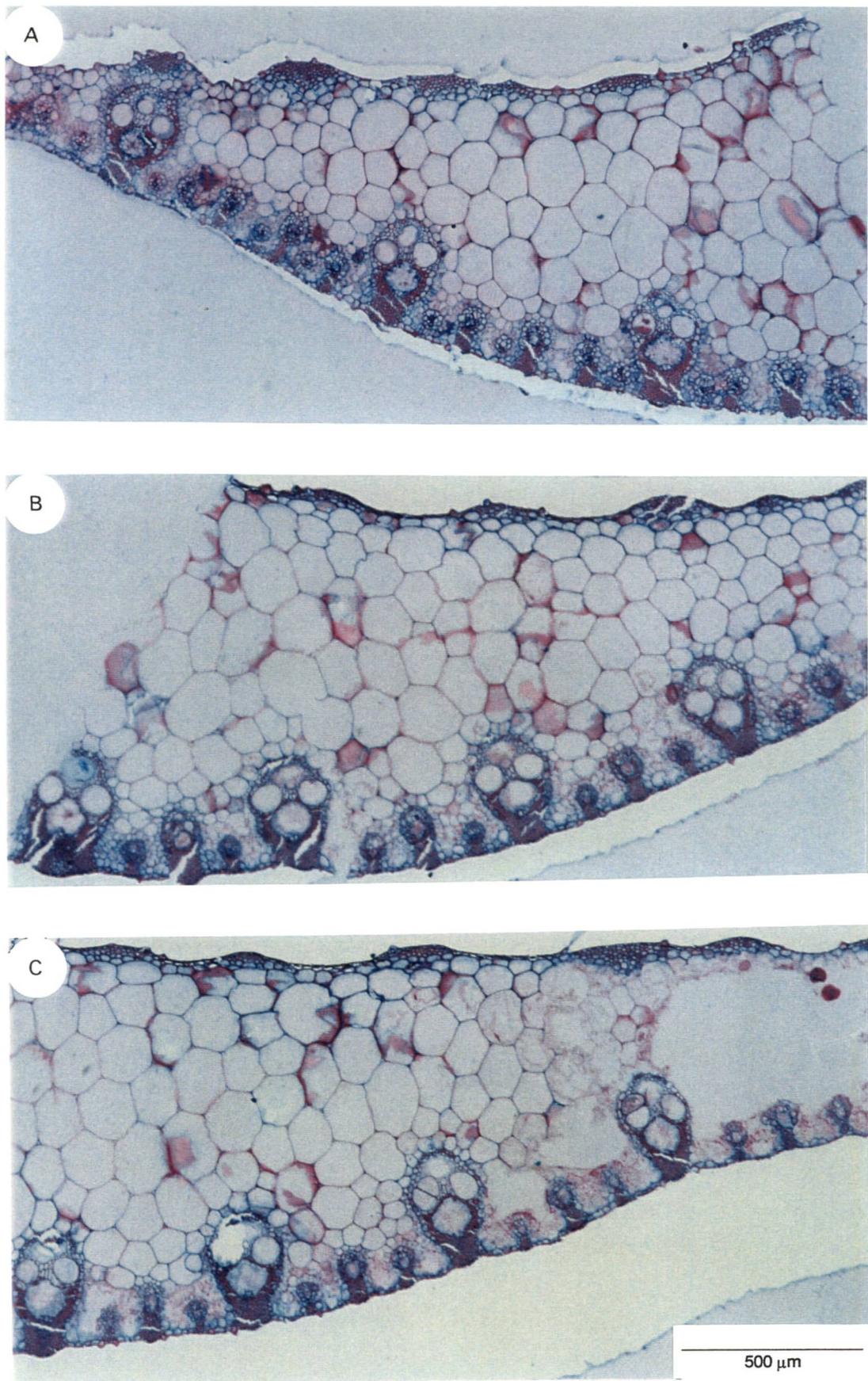
**Fig. 33-** Secções transversais da quilha foliar de *P. purpureum* cv. Empasc 307 Testa, da primeira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)



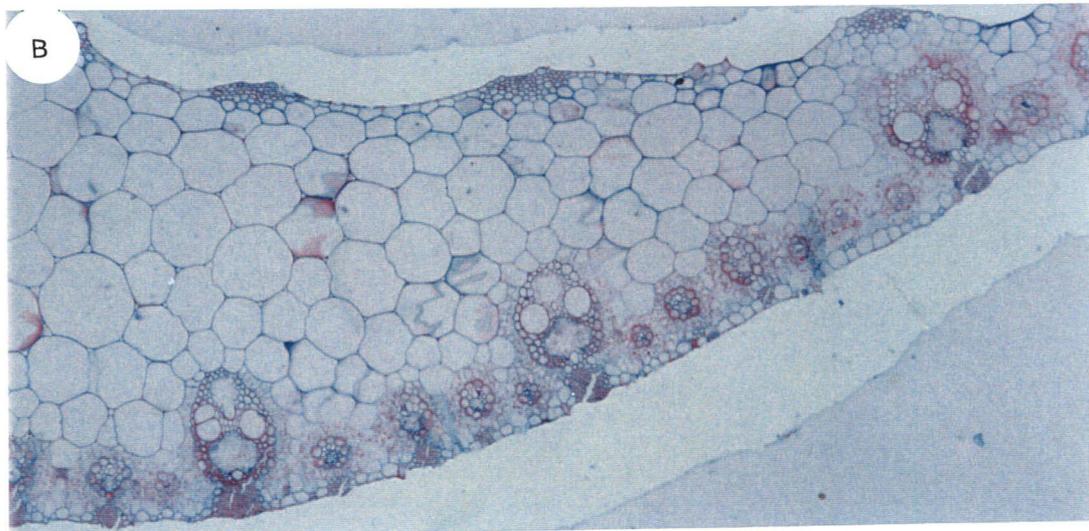
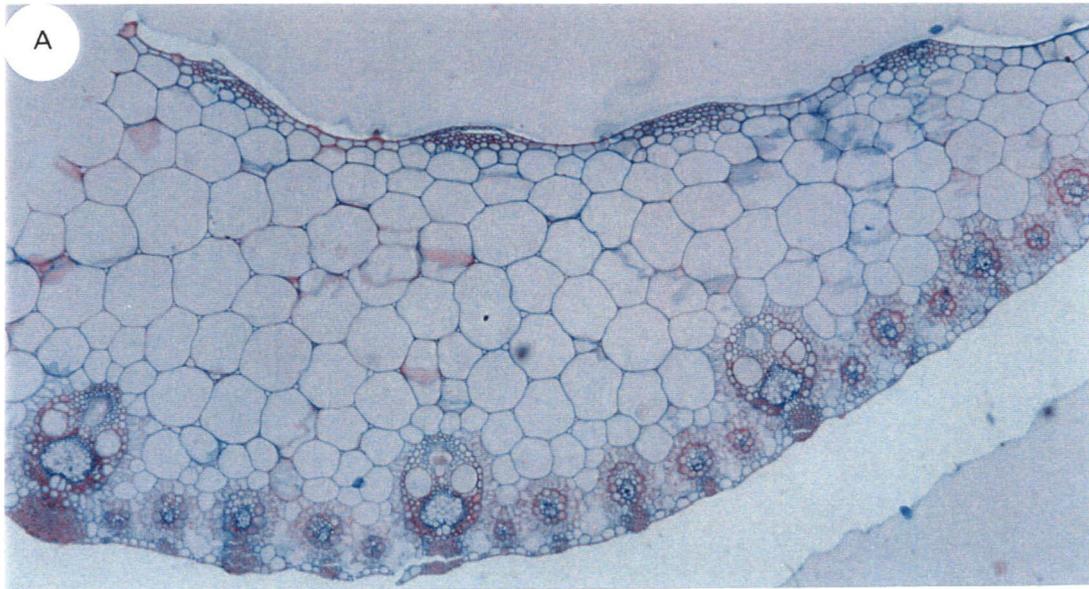
**Fig. 34-** Secções transversais da quilha foliar de *P. purpureum* cv. Empasc 307 Testa, da terceira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)



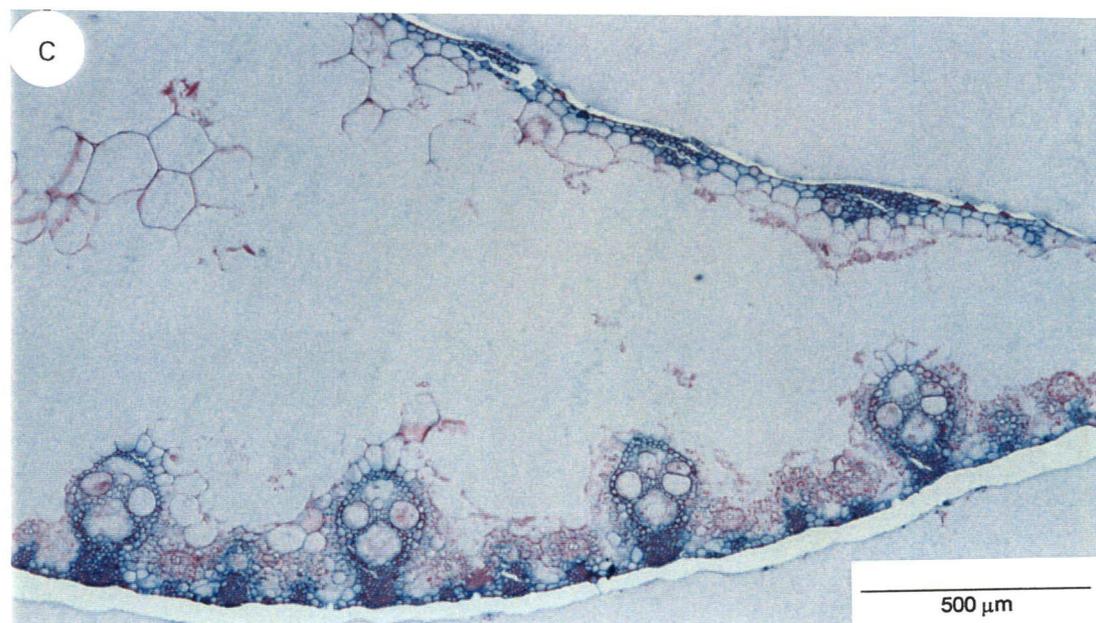
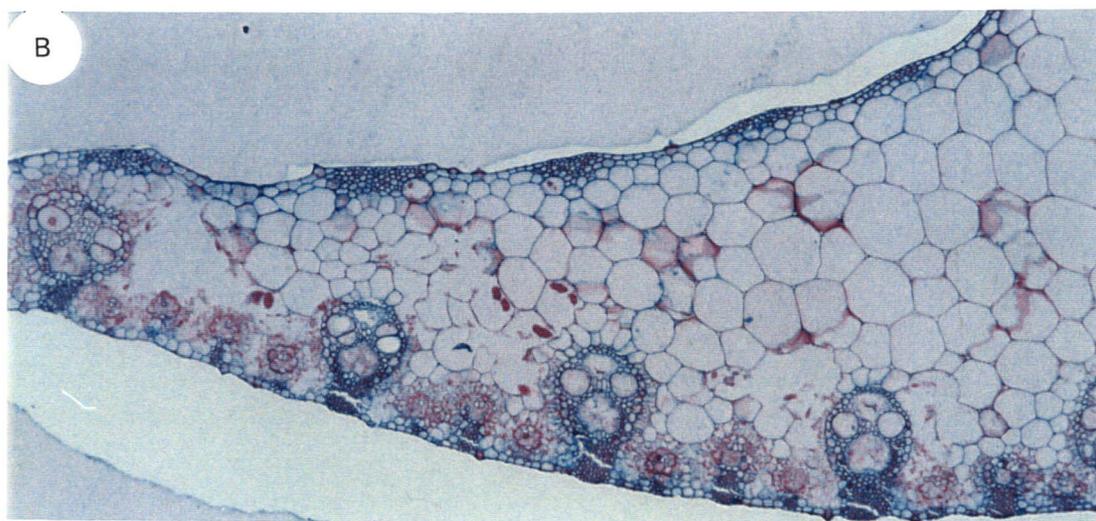
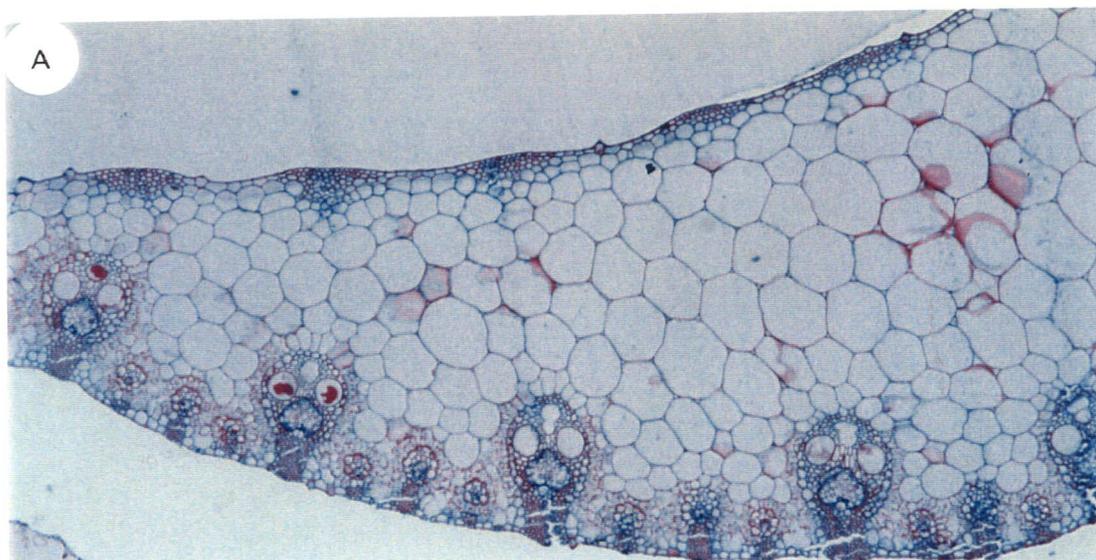
**Fig. 35-** Secções transversais da quilha foliar de *P. purpureum* cv. roxo, da primeira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)



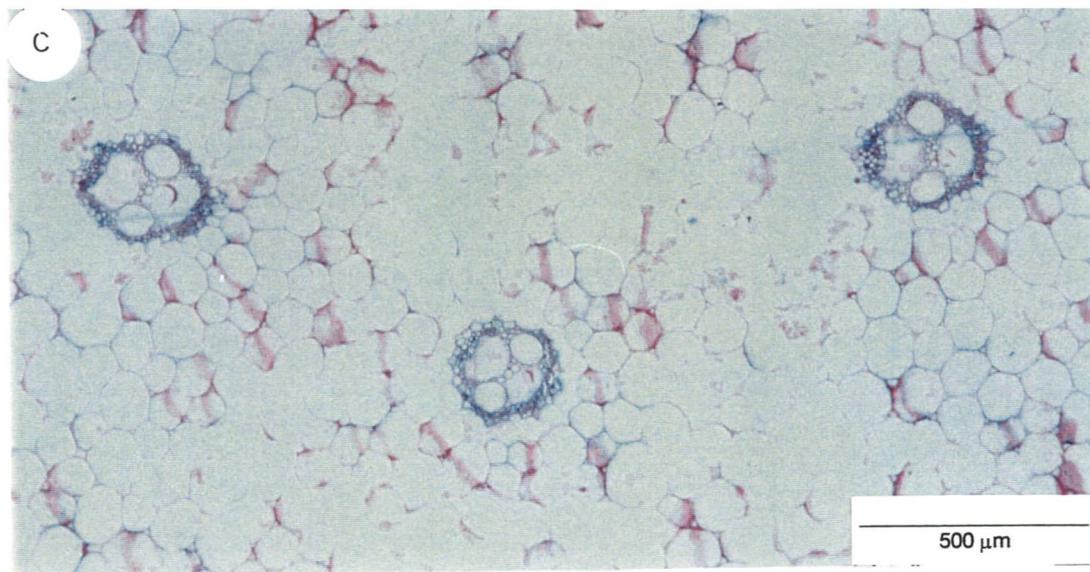
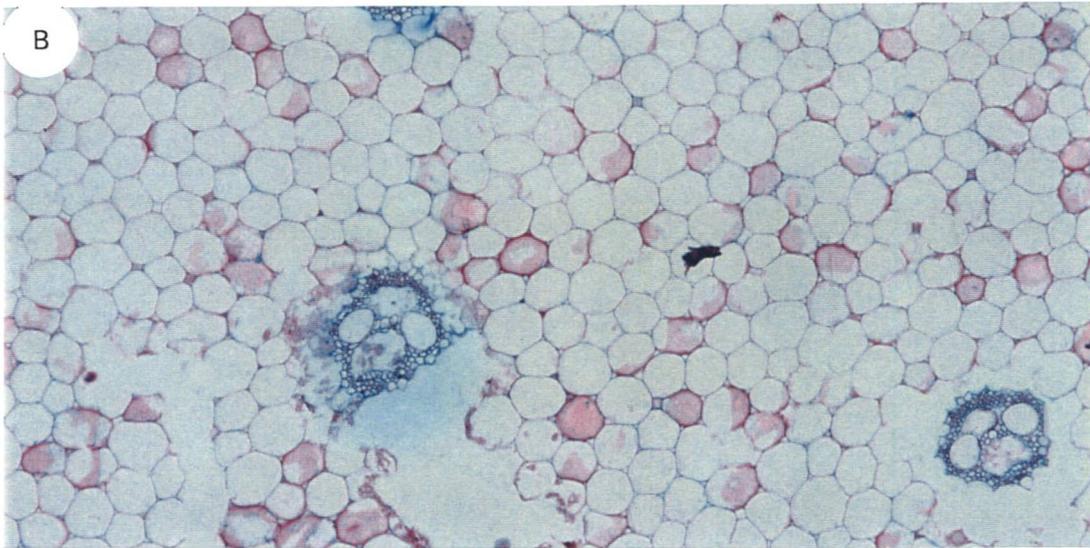
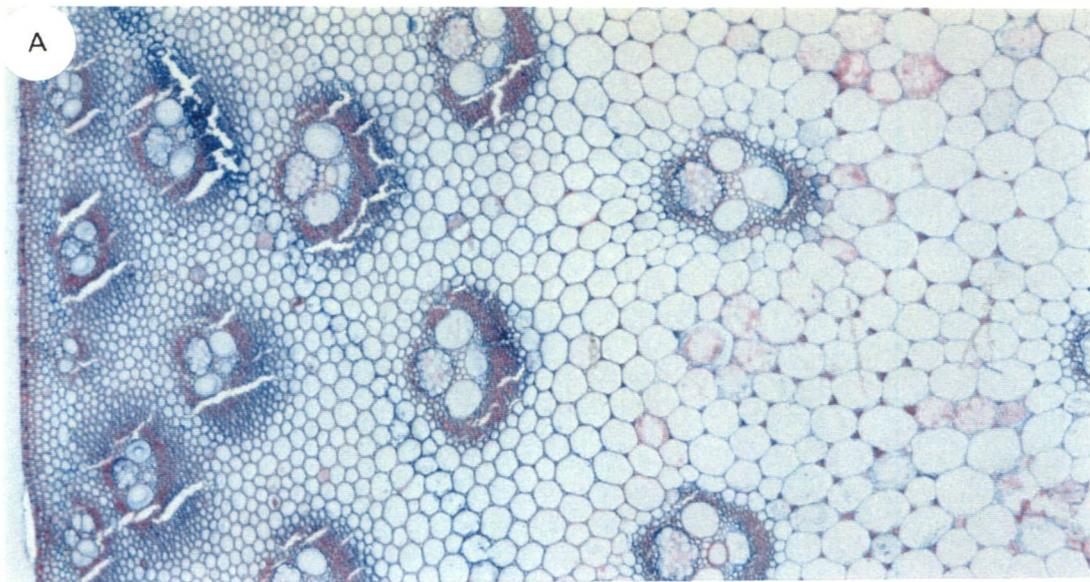
**Fig. 36-** Secções transversais da quilha foliar de *P. purpureum* cv. roxo, da terceira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)



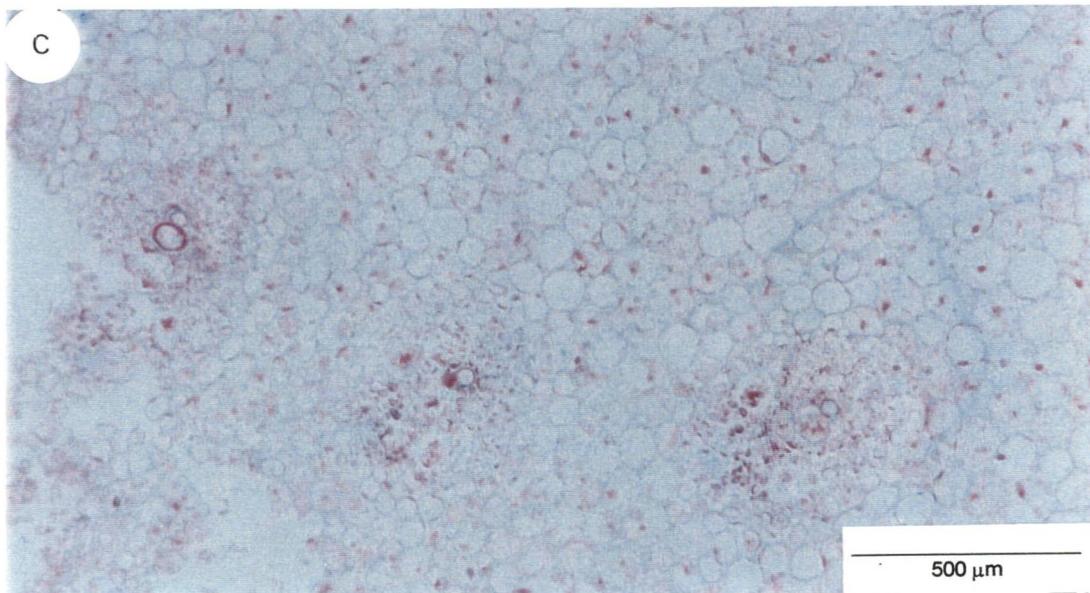
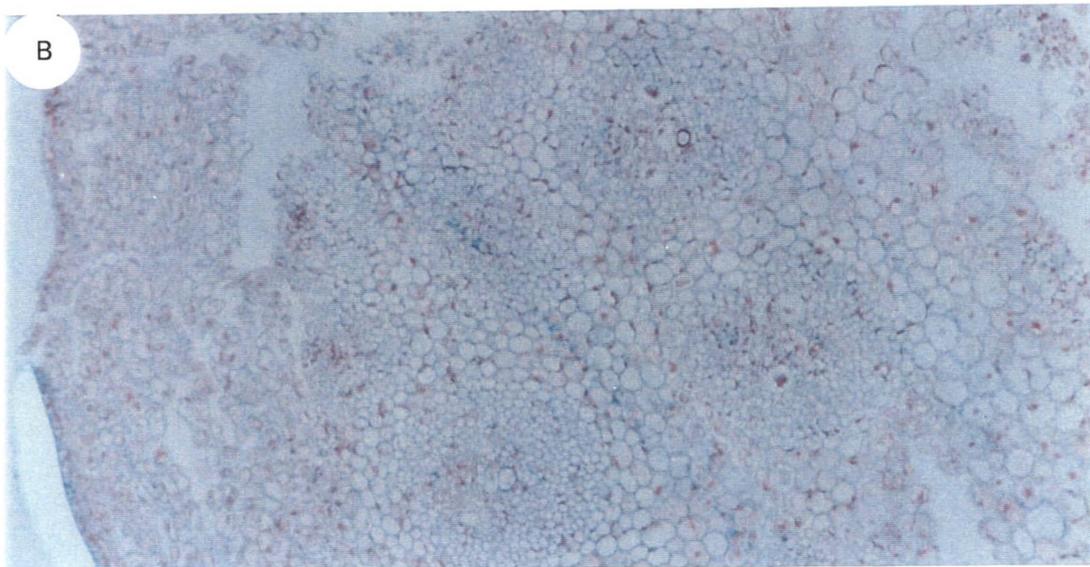
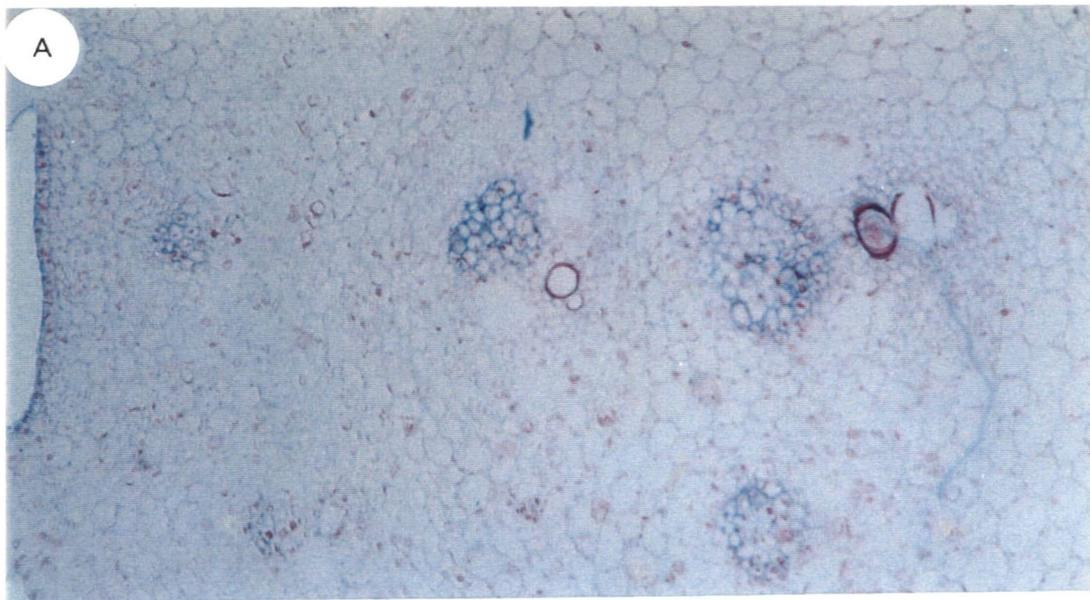
**Fig. 37-** Secções transversais da quilha foliar de *P. purpureum* cv. Empasc 309 Areia, da primeira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)



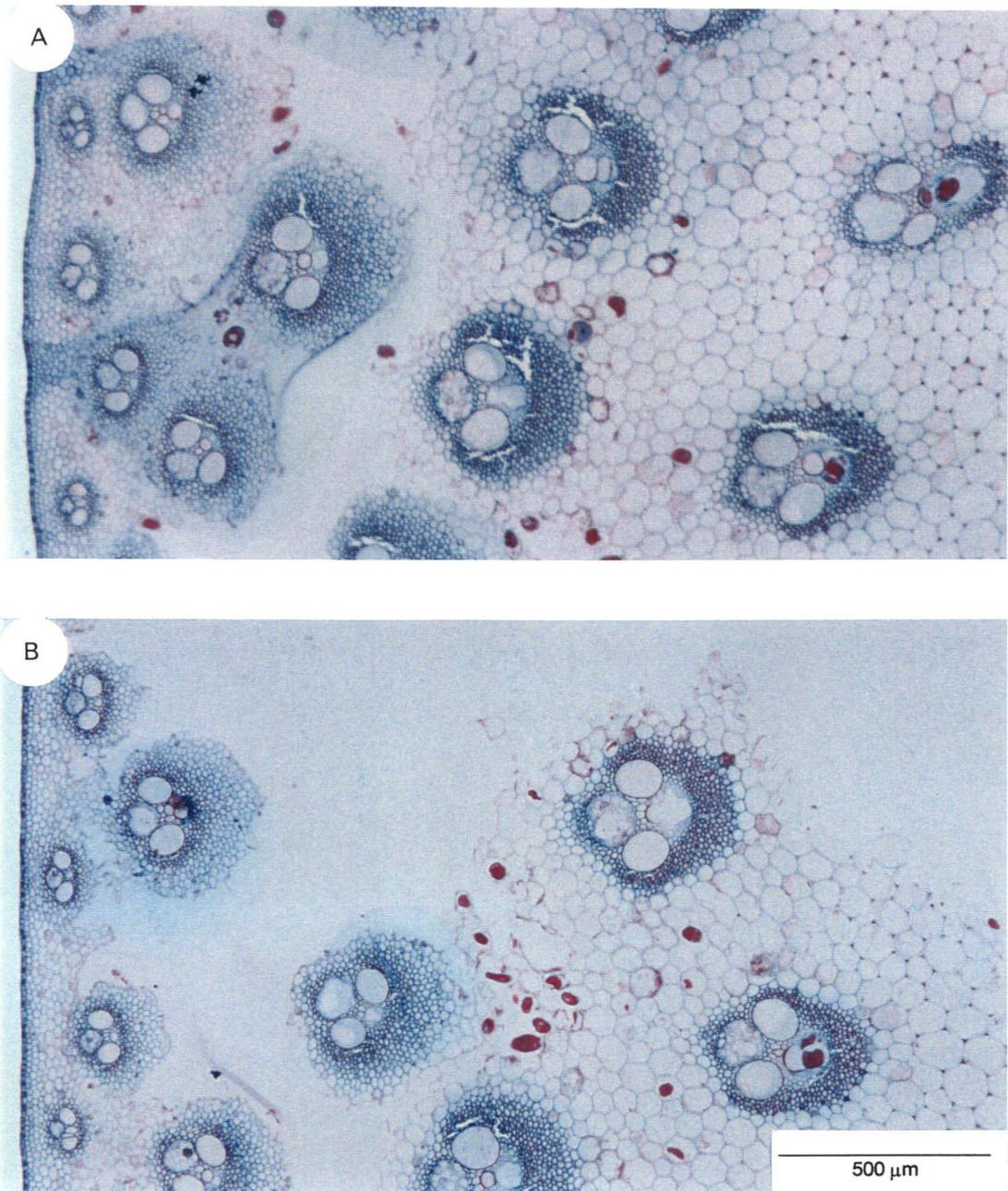
**Fig. 38-** Secções transversais da quilha foliar de *P. purpureum* cv. Empasc 309 Areia, da terceira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)



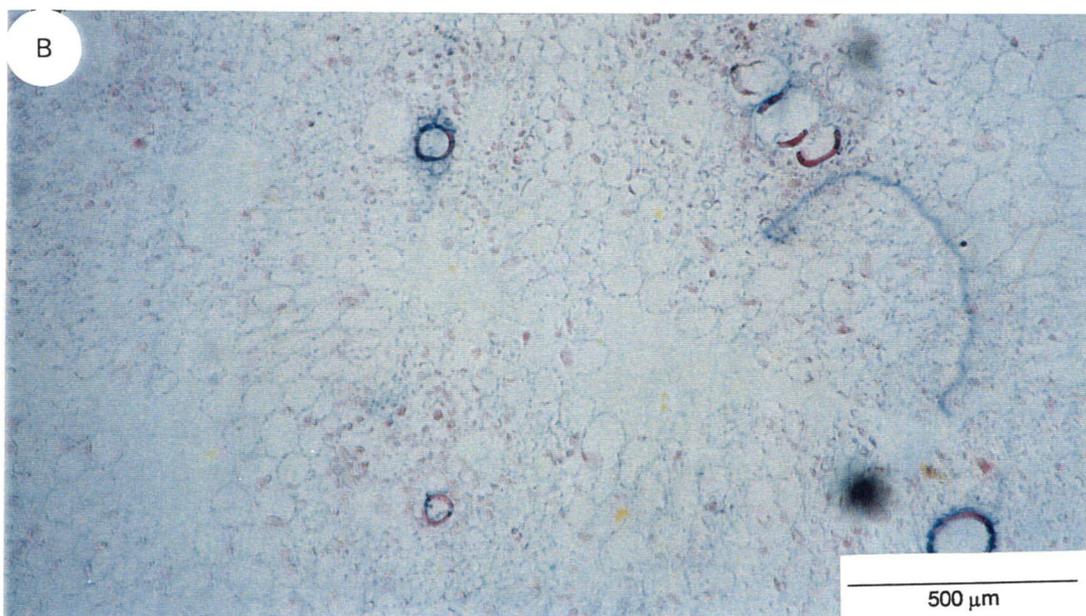
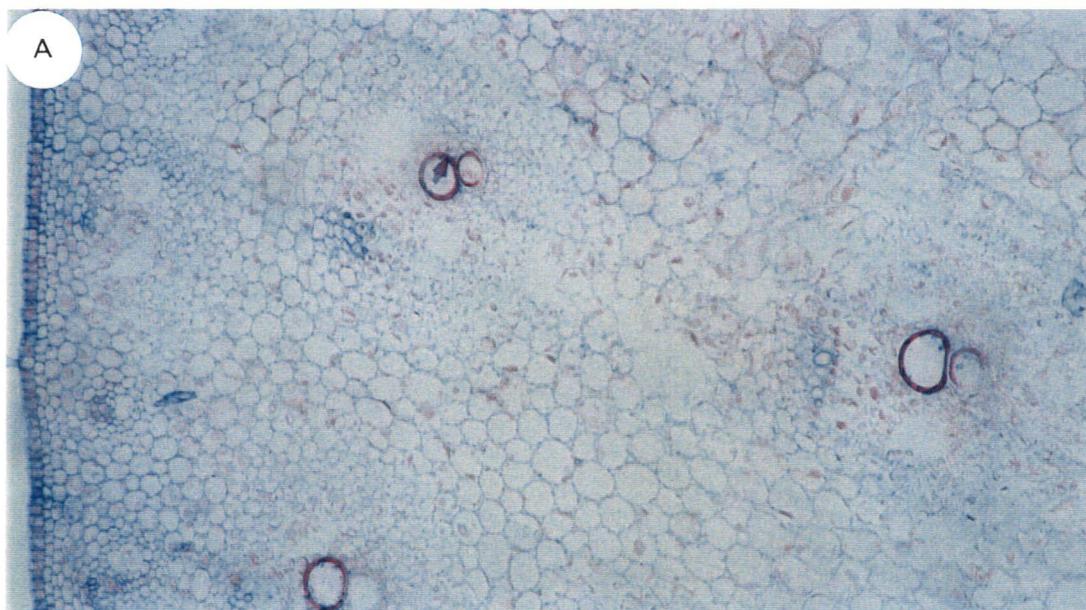
**Fig. 39-** Seções transversais do caule de *P. purpureum* cv. Empasc 307 Testa, da terceira coleta. A- Após 6h sob digestão *in vitro*; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF)



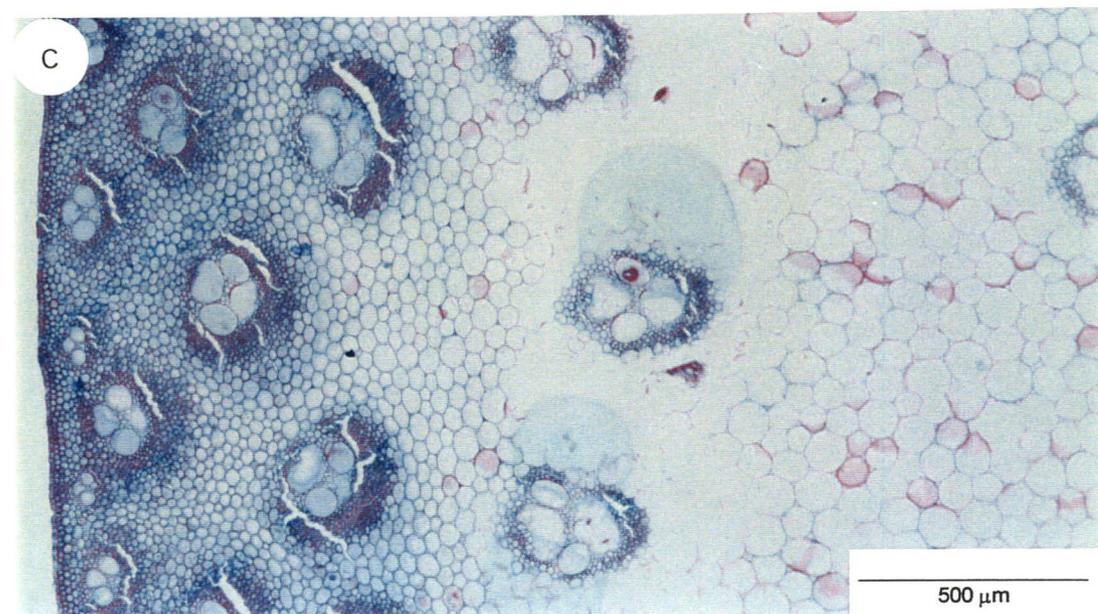
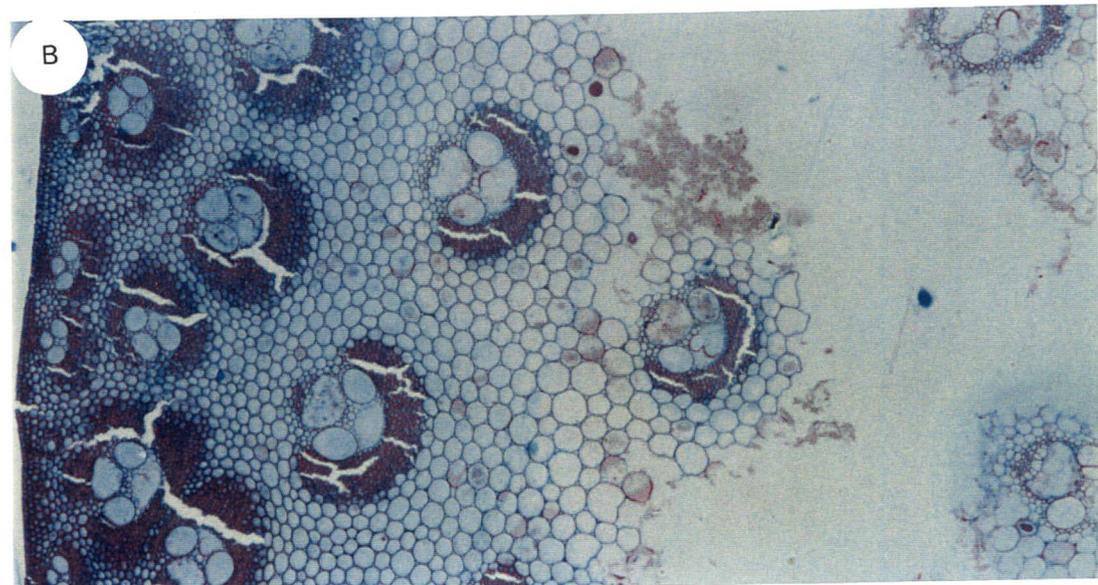
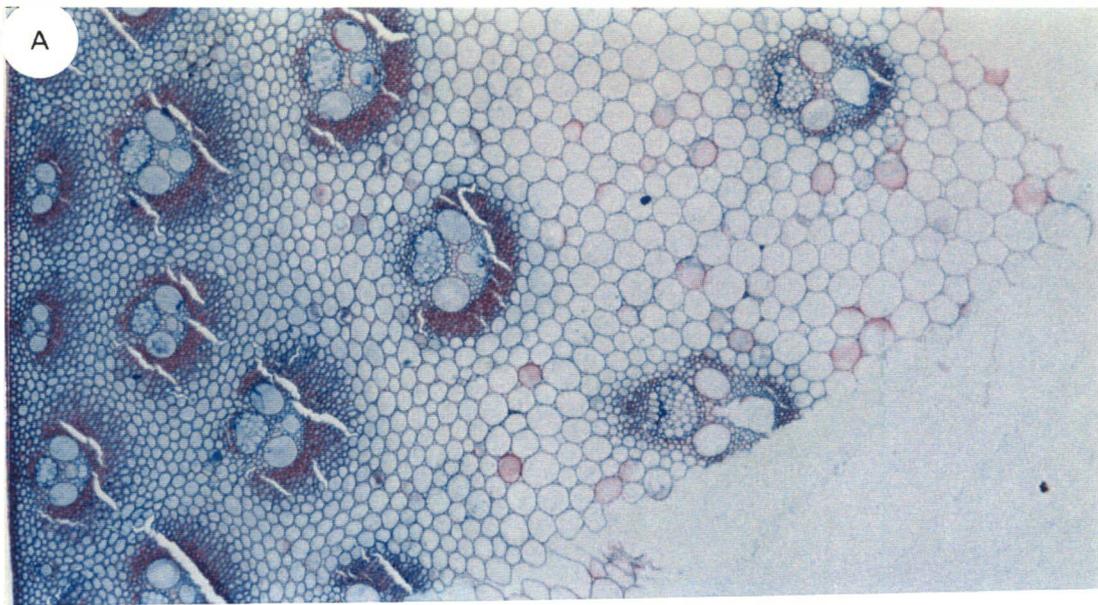
**Fig. 40-** Secções transversais do caule de *P. purpureum* cv. roxo, da primeira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h; **C-** Após 48 h. (MF)



**Fig. 41-** Secções transversais do caule de *P. purpureum* cv. roxo, da terceira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h. (MF)



**Fig. 42-** Secções transversais do caule de *P. purpureum* cv. Empasc 309 Areia, da primeira coleta. **A-** Após 6h sob digestão *in vitro*; **B-** Após 24 h. (MF)



**Fig. 43-** Secções transversais do caule de *P. purpureum* cv. Empasc 309 Areia, da terceira coleta. A- Após 6h sob digestão *in vitro*; B- Após 24 h; C- Após 48 h. (MF)

## 5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem apresentar as seguintes conclusões:

- 1- O cultivar Roxo foi o que apresentou porte mais elevado, com lâminas e bainhas foliares mais longas.
- 2- Os três cultivares apresentaram características anatômicas semelhantes.
- 3- Com a maturidade do vegetal, houve aumento da porcentagem dos tecidos lignificados em todos os órgãos.
- 4- Na média das três coletas, o cultivar EMPASC 307 Testa apresentou maior área de tecidos lignificados, principalmente na região da quilha e do limbo foliar, sugerindo menor potencial de degradação ruminal.
- 5- Aparentemente, até a oitava semana de crescimento a qualidade da forrageira não é afetada, pois não houve redução expressiva na degradação dos tecidos. Já às 16 semanas, houve redução na área degradada de todos os órgãos, com exceção da bainha foliar.
- 6- O aumento da área degradada da bainha foliar foi relacionado com a presença do aerênquima, cuja formação foi observada a partir da segunda semana.
- 7- A presença dos estômatos contribuiu no aumento da degradação do mesofilo, pois facilita o acesso dos microorganismos às camadas mais internas.

**ANEXO 1 - DADOS METEREOLÓGICOS  
E DO SOLO**

**Quadro 1** - Dados climáticos do período de 16/11/1994 a 08/03/1995 fornecidos pela EPAGRI, Estação Experimental de Itajaí - SC, referentes ao local do experimento.

| Data     | temperatura<br>máxima | temperatura<br>mínima | temperatura<br>média | umidade<br>relativa | precipitação | radiação |
|----------|-----------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|--------------|----------|
| 16/11/94 | 32.2                  | 21.5                  | 26.2                 | 84                  | 0.0          | 660.0    |
| 17       | 28.8                  | 23.0                  | 25.3                 | 82                  | 3.7          | 514.8    |
| 18       | 23.0                  | 19.0                  | 20.5                 | 85                  | 2.0          | 132.0    |
| 19       | 23.4                  | 19.5                  | 20.3                 | 65                  | 0.0          | 396.0    |
| 20       | 24.6                  | 13.6                  | 19.2                 | 67                  | 0.0          | 660.0    |
| 21       | 23.8                  | 16.0                  | 20.4                 | 65                  | 0.0          | 462.0    |
| 22       | 26.4                  | 12.5                  | 19.4                 | 70                  | 0.0          | 831.6    |
| 23       | 25.4                  | 14.0                  | 20.4                 | 65                  | 0.0          | 567.6    |
| 24       | 25.4                  | 14.0                  | 24.5                 | 68                  | 0.0          | 858.0    |
| 25       | 27.5                  | 14.5                  | 22.0                 | 75                  | 0.0          | 660.0    |
| 26       | 33.0                  | 19.4                  | 25.2                 | 78                  | 6.1          | 660.0    |
| 27       | 28.4                  | 18.5                  | 22.4                 | 87                  | 31.4         | 528.0    |
| 28       | 24.8                  | 19.5                  | 22.2                 | 94                  | 2.6          | 264.0    |
| 29       | 32.6                  | 20.0                  | 24.8                 | 60                  | 0.0          | 528.0    |
| 30       | 28.6                  | 12.5                  | 19.9                 | 62                  | 0.0          | 924.0    |
| 01/12/94 | 28.8                  | 13.5                  | 21.9                 | 77                  | 0.0          | 884.4    |
| 02       | 29.4                  | 19.5                  | 24.5                 | 84                  | 0.0          | 660.0    |
| 03       | 31.5                  | 20.5                  | 25.4                 | 83                  | 0.0          | 792.0    |
| 04       | 32.6                  | 22.0                  | 25.9                 | 84                  | 4.8          | 235.0    |
| 05       | 25.0                  | 20.5                  | 23.6                 | 79                  | 1.4          | 211.2    |
| 06       | 26.2                  | 19.5                  | 23.0                 | 93                  | 2.5          | 264.0    |
| 07       | 30.2                  | 21.0                  | 24.9                 | 74                  | 0.0          | 726.0    |
| 08       | 26.6                  | 20.0                  | 22.3                 | 76                  | 0.0          | 528.0    |
| 09       | 27.0                  | 15.0                  | 21.2                 | 75                  | 0.0          | 726.0    |
| 10       | 30.4                  | 19.5                  | 24.6                 | 80                  | 0.0          | 792.0    |
| 11       | 31.4                  | 21.4                  | 25.8                 | 82                  | 0.0          | 792.0    |
| 12       | 33.4                  | 21.5                  | 27.1                 | 83                  | 0.0          | 792.0    |
| 13       | 38.4                  | 24.0                  | 28.7                 | 78                  | 4.0          | 528.0    |
| *14*     | 37.0                  | 22.5                  | 26.8                 | 82                  | 36.7         | 792.0    |
| 15       | 31.0                  | 22.0                  | 26.2                 | 81                  | 5.3          | 475.2    |
| 16       | 25.8                  | 22.0                  | 23.8                 | 89                  | 7.7          | 462.0    |
| 17       | 32.0                  | 22.0                  | 26.3                 | 87                  | 0.1          | 211.2    |
| 18       | 30.4                  | 23.2                  | 26.0                 | 61                  | 0.6          | 422.4    |
| 19       | 26.7                  | 21.0                  | 23.3                 | 85                  | 4.6          | 396.0    |
| 20       | 26.6                  | 19.5                  | 23.5                 | 83                  | 0.7          | 132.0    |
| 21       | 26.8                  | 21.6                  | 24.1                 | 89                  | 14.6         | 316.8    |
| 22       | 23.2                  | 21.0                  | 22.0                 | 98                  | 61.6         | 132.0    |
| 23       | 28.8                  | 19.5                  | 24.3                 | 89                  | 0.0          | 462.0    |
| 24       | 30.0                  | 20.0                  | 25.0                 | 77                  | 0.5          | 660.0    |
| 25       | 30.0                  | 21.5                  | 25.9                 | 83                  | 0.0          | 607.2    |
| 26       | 29.6                  | 22.0                  | 25.9                 | 83                  | 1.6          | 462.0    |
| 27       | 29.6                  | 22.4                  | 25.8                 | 90                  | 8.7          | 396.0    |
| 28       | 30.6                  | 21.5                  | 22.3                 | 86                  | 2.6          | 528.0    |
| 29       | 29.0                  | 24.0                  | 25.7                 | 90                  | 14.2         | 264.0    |

| Data    | temp. máx. | temp. mín. | temp. méd. | umidade rel. | precipitação | radiação |
|---------|------------|------------|------------|--------------|--------------|----------|
| 30      | 27.4       | 22.5       | 24.8       | 96           | 10.6         | 198.0    |
| 31      | 31.8       | 23.0       | 26.3       | 90           | 13.0         | 396.0    |
| 01/1/95 | 33.0       | 23.0       | 26.6       | 90           | 13.1         | 316.8    |
| 02      | 33.6       | 22.5       | 27.0       | 93           | 0.2          | 198.0    |
| 03      | 30.6       | 22.5       | 26.3       | 84           | 0.0          | 396.0    |
| 04      | 32.2       | 21.5       | 27.0       | 82           | 28.1         | 726.0    |
| 05      | 31.6       | 24.0       | 27.3       | 90           | 0.5          | 303.6    |
| 06      | 32.6       | 25.0       | 27.1       | 91           | 35.3         | 660.0    |
| 07      | 25.0       | 23.0       | 23.9       | 91           | 12.2         | 739.2    |
| 08      | 32.4       | 22.6       | 27.1       | 87           | 0.0          | 739.2    |
| 09      | 32.1       | 24.0       | 26.2       | 78           | 44.3         | 462.0    |
| 10      | 22.4       | 20.5       | 20.9       | 94           | 21.1         | 462.0    |
| *11*    | 24.2       | 19.0       | 21.1       | 92           | 36.9         | 396.0    |
| 12      | 24.6       | 20.0       | 22.3       | 96           | 11.0         | 488.4    |
| 13      | 31.0       | 21.5       | 25.5       | 88           | 5.2          | 739.2    |
| 14      | 30.8       | 22.0       | 25.0       | 92           | 13.7         | 488.4    |
| 15      | 32.4       | 22.5       | 26.1       | 92           | 3.2          | 541.2    |
| 16      | 35.0       | 22.5       | 26.9       | 84           | 6.6          | 396.0    |
| 17      | 32.4       | 22.0       | 26.5       | 77           | 1.2          | 132.0    |
| 18      | 25.0       | 22.0       | 23.4       | 96           | 36.6         | 462.0    |
| 19      | 27.6       | 22.0       | 24.3       | 91           | 13.2         | 448.8    |
| 20      | 28.4       | 22.5       | 25.3       | 93           | 3.3          | 607.2    |
| 21      | 30.6       | 22.4       | 24.6       | 90           | 4.3          | 422.4    |
| 22      | 29.4       | 20.0       | 24.2       | 86           | 19.4         | 396.0    |
| 23      | 28.2       | 21.5       | 24.8       | 81           | 0.0          | 660.0    |
| 24      | 31.8       | 20.5       | 26.5       | 81           | 12.9         | 462.0    |
| 25      | 31.4       | -          | -          | 92           | 19.1         | 831.6    |
| 26      | 29.6       | 21.5       | 25.4       | 87           | 0.3          | 567.6    |
| 27      | 31.2       | 23.0       | 25.2       | 87           | 0.0          | 858.0    |
| 28      | 31.6       | 21.0       | 25.7       | 81           | 0.0          | 660.0    |
| 29      | 28.0       | 21.5       | 24.5       | 68           | 1.2          | 660.0    |
| 30      | 25.4       | 21.0       | 22.9       | 91           | 24.5         | 303.6    |
| 31      | 30.5       | 21.5       | 25.7       | 91           | 1.6          | 593.0    |
| 01/2/95 | 27.8       | 24.0       | 26.2       | 92           | 12.5         | 316.8    |
| 02      | 27.6       | 23.5       | 24.5       | 93           | 11.3         | 198.0    |
| 03      | 25.0       | 19.0       | 22.3       | 64           | 0.0          | 396.0    |
| 04      | 28.6       | 16.0       | 22.9       | 77           | 1.3          | 726.0    |
| 05      | 25.8       | 21.5       | 23.1       | 90           | 12.4         | 303.6    |
| 06      | 27.8       | 18.0       | 22.8       | 67           | 0.0          | 594.0    |
| 07      | 26.6       | 17.0       | 21.6       | 78           | 7.2          | 198.0    |
| 08      | 25.0       | 18.3       | 22.1       | 91           | 14.4         | 232.0    |
| 09      | 24.2       | 20.5       | 22.3       | 95           | 25.6         | 264.0    |
| 10      | 26.8       | 20.5       | 23.3       | 91           | 3.5          | 66.0     |
| 11      | 22.4       | 20.5       | 23.2       | 87           | 1.1          | 330.0    |
| 12      | 23.6       | 20.5       | 23.5       | 86           | 1.1          | 660.0    |
| 13      | 25.4       | 22.0       | 23.0       | 93           | 32.7         | 792.0    |
| 14      | 24.8       | 19.5       | 22.2       | 94           | 4.2          | 792.0    |
| 15      | 28.4       | 21.5       | 24.6       | 93           | 8.0          | 660.0    |
| 16      | 29.4       | 22.2       | 25.5       | 86           | 0.0          | 739.2    |
| 17      | 33.5       | 22.2       | 26.2       | 84           | 3.9          | 739.2    |

| Data     | temp. máx. | temp. mín. | temp. méd. | umidade rel. | precipitação | radiação |
|----------|------------|------------|------------|--------------|--------------|----------|
| 18       | 28.4       | 21.5       | 23.4       | 88           | 5.9          | 462.0    |
| 19       | 25.3       | 18.5       | 22.0       | 78           | 0.0          | 462.0    |
| 20       | 26.6       | 19.0       | 22.9       | 81           | 0.2          | 396.0    |
| 21       | 30.2       | 20.0       | 24.4       | 85           | 0.0          | 488.4    |
| 22       | 31.4       | 21.0       | 26.4       | 89           | 0.0          | 739.2    |
| 23       | 34.8       | 23.0       | 26.6       | 90           | 14.3         | 488.0    |
| 24       | 32.6       | 22.0       | 25.3       | 91           | 21.6         | 488.4    |
| 25       | 31.2       | 22.0       | 25.8       | 86           | 0.0          | 541.2    |
| 26       | 30.4       | 23.0       | 26.2       | 87           | 0.1          | 396.0    |
| 27       | 30.0       | 22.5       | 24.9       | 91           | 1.1          | 132.0    |
| 28       | 34.0       | 21.5       | 26.8       | 78           | 0.0          | 462.0    |
| 01/03/95 | 30.4       | 22.5       | 25.0       | 91           | 35.9         | 448.8    |
| 02       | 31.2       | 21.0       | 24.2       | 90           | 0.5          | 607.2    |
| 03       | 30.8       | 19.5       | 25.1       | 88           | 1.7          | 422.4    |
| 04       | 32.6       | 20.6       | 24.9       | 88           | 15.6         | 594.0    |
| 05       | 30.6       | 20.0       | 24.4       | 85           | 2.7          | 660.0    |
| 06       | 26.0       | 21.5       | 23.8       | 87           | 5.1          | 224.4    |
| 07       | 27.4       | 22.0       | 24.2       | 94           | 13.3         | 198.0    |
| *08*     | 31.0       | 22.0       | 25.6       | 87           | 21.1         | 528.0    |

FONTE: EPAGRI- Estação Experimental de Itajaí, SC.

16/11/94 - Corte raso das parcelas

\* - Data das coletas

**Quadro 2-** Análise físico-química do solo da área das parcelas experimentais de *P. purpureum*.

**Análise Química**

|                        | meq/dl de solo    |         | ppm |    | %   |
|------------------------|-------------------|---------|-----|----|-----|
| pH em H <sub>2</sub> O | Al <sup>+++</sup> | Ca + Mg | K   | P  | MO  |
| 5,3                    | 0,3               | 3,2     | 56  | 40 | 1,7 |

FONTE: EPAGRI- Estação Experimental de Itajaí, SC.

**Análise Física**

| %      |       |            |              |
|--------|-------|------------|--------------|
| Argila | Silte | Areia Fina | Areia Grossa |
| 7,2    | 7,8   | 56         | 29           |

FONTE: EPAGRI- Estação Experimental de Itajaí, SC.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS \*

AKIN, D.E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. **Agron. J.**, v. 81, p. 17-25, jan./fev. 1989.

\_\_\_\_\_. Microscopic evaluation of forage digestion by rumen microorganisms - a review. **J. An. Sci.**, v.48, n. 3, p. 701-710, 1979.

\_\_\_\_\_. Section to slide technique for study of forage anatomy and digestion. **Crop Sci.**, v.22, n. 2, p. 444-446, mar./abr. 1982.

AKIN, D.E.; AMOS, H.E.; BARTON II, F.E. *et al.* Microbial degradation of grass tissue revealed by scanning electron microscopy. **Agron. J.**, v. 65, p. 825-828, 1973.

AKIN, D.E., BURDICK, D. Percentage of tissue types in tropical and temperate grass leaf blades and degradation of tissues by rumen microorganisms. **Crop Sci.**, v. 15, p. 661-668, set./out. 1975.

\_\_\_\_\_. Relationship of different histochemical types of lignified cell walls to forage digestibility. **Crop Sci.**, v. 21, p. 577-581, jul./ago. 1981.

\_\_\_\_\_. Rumen microbial degradation of starch-containing bundle sheath cells in warm-season grasses. **Crop Sci.**, v. 17, p. 529-533, jul./ago. 1977.

AKIN, D.E.; BURDICK, D.; MICHAELS, G.E. Rumen bacterial interrelationships with plant tissue during degradation revealed by transmission electron microscopy. **Appl. Microbiol.**, v. 27, n. 6, p. 1149-1156, jun. 1974.

AKIN, D.E.; FALES, S.L.; RIGSBY, L.L.; SNOOK, M.E. Temperature effects on leaf anatomy, phenolic acids and tissue digestibility in tall fescue. **Agron. J.**, v. 79, p. 271-275, mar./abr. 1987.

---

\* Universidade Federal do Paraná - Biblioteca Central. **Normas para apresentação de trabalhos.** 3.ed. Curitiba: Ed. da UFPR, 1994. 8 v.

- AKIN, D.E.; RIGSBY, L.L.; BROWN, R.H. Ultrastructure of cell wall degradation in *Panicum* species differing in digestibility. **Crop Sci.**, v. 24, p. 156-163, jan./fev. 1984.
- AKIN, D.E.; RIGSBY, L.L.; LYON, C.E.; WINDHAM, W.R. Relationship of tissue digestion to textural strength in bermudagrass and alfafa stems. **Crop Sci.**, v.30, p. 990-993, set./out. 1990.
- AKIN, D.E.; ROBINSON, E.L.; BARTON II, F.E.; HIMMELSBACH, D.S. Changes with maturity in anatomy, histochemistry, chemistry and tissue digestibility of bermudagrass plant parts. **J. Agric. Food Chem.**, v. 25, n. 1, p. 179-186, 1977.
- AKIN, D.E.; WILSON, J.R.; WINDHAM, W.R. Site and rate of tissue digestion in leaves of C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> and C<sub>3</sub> / C<sub>4</sub> intermediate *Panicum* species. **Crop Sci.**, v. 23, p. 147-155, jan./fev. 1983.
- ALCÂNTARA, P. B.; BUFARAH, G. **Plantas forrageiras: gramíneas e leguminosas**. 4.ed. São Paulo: Nobel, 1992. 162 p.
- ALVES DE BRITO, C.J.F; ALQUINI, Y. A new method for staining botanical material embedded in glycol methacrylate. **Arq. Biol. Tecnol.**, v.39, n.4, p. 949-951, 1996.
- ANDRADE, I.F.; GOMIDE, J.A. Curva de crescimento e valor nutritivo de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) "A-146 Taiwan". **Ceres**, Viçosa, v. 18, n. 100, p. 431-447, nov./dez. 1971.
- ANDRIGUETTO, J.M.; PERLY, L.; MINARDI, I. *et al.* **Nutrição animal**. v.1. As bases e os fundamentos da nutrição animal. São Paulo: Nobel, 1988. 395 p.
- ARAÚJO, A. A. **Forragens para ceifa**. Porto Alegre: Sulina, 1966. 154p.
- AUGUSTIN, E.; TCACENCO, F.A. Isoenzymatic characterization of elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.) germoplasm. **Rev. Bras. Genet.**, v. 16, n. 3, p. 685-696, 1993.

- BOGDAN, A.V. **Tropical pasture and fodder plants**. London: Longman, 1977. 475 p.
- BROWN, W.V. Variations in anatomy, associations, and origins of Kranz tissue. **Amer. J. Bot.**, v. 62, n. 4, p. 395-402, 1975.
- BUVAT, R. **Ontogeny, cell differentiation and structure of vascular plants**. Berlin: Springer-Verlag, 1989. 581 p.
- CHASE, A.; SENDULSKY, T. **Primeiro livro de gramíneas: noções sobre a estrutura com exemplos da flora brasileira**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1991. 125 p.
- CHERNEY, J.H.; MARTEN, G.C. Small grain crop forage potential: II. Interrelationships among biological, chemical, morphological and anatomical determinants of quality. **Crop Sci.**, v. 22, p. 240-243, 1982.
- CHESSON, A.; STEWARD, C.S.; DALGARNO, K.; KING, T.P. Degradation of isolated grass mesophyll, epidermis and fibre cell walls in the rumen and by cellulolytic rumen bacteria in axenic culture. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 60, p. 327-336, 1986.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981. 1262 p.
- CUTTER, E. G. **Anatomia Vegetal**, v. II. São Paulo: Rocca, 1986-87. 336 p.
- DAHLGREN, R.M.T.; CLIFFORD, H.T. **The monocotyledons: a comparative study**. New York: Academic Press, 1982. 377 p.
- DAHLGREN, R.M.T.; CLIFFORD, H.T.; YEO, P.F. **The families of the Monocotyledons: structure, evolution and taxonomy**. Berlin: Springer-Verlag, 1985. 520 p.
- DÁVILA, P.; CLARK, L.G. Scanning electron microscopy survey of leaf epidermis of *Sorghastrum* (Poaceae: Andropogoneae). **Amer. J. Bot.**, v. 77, n. 4, p. 499-511, 1990.

- DENGLER, N.G.; DENGLER, R.E.; HATTERSLEY, P.W. Differing ontogenetic origins of PCR ("Kranz") sheaths in leaf blades of C<sub>4</sub> grasses (Poaceae). **Amer. J. Bot.**, v. 72, n. 2, p. 248-302, 1985.
- DESCHAMPS, F.C. **Ácido fosfórico diluído associado a temperatura e pressão no pré tratamento do bagaço de cana destinado à alimentação de ruminantes**. Curitiba, 1995. Tese de Doutorado, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná. 137 p.
- DOP, P.; GAUTIÉ, A. **Manual de technique botanique**. 2 ed. Paris: J. Lamarre, 1928. 594 p.
- DOWNES, R.W. Differences between tropical and temperate grasses in rates of photosynthesis and transpiration. **Proc. XI Int. Grassl. Congr.**, Canberra, Austrália, p. 527-530, 1970.
- ENGELS, F.M.; SCHUURMANS, J.L.L. Relationship between structural development of cell walls and degradation of tissues in maize stems. **J. Sci. Food Agric.**, v. 59, p. 45-51, 1992.
- ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: Edgard Blücher, 1974. 293 p.
- \_\_\_\_\_. **Anatomia de las plantas com semilla**. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 1982. 512 p.
- \_\_\_\_\_. **Anatomia vegetal**. 2 ed. Barcelona: Omega, 1972. 778 p.
- FAHN, A. **Anatomia vegetal**, 2 ed. Madrid: H. Blume, 1974. 643 p.
- FOSKET, D. E. **Plant growth and development: a molecular approach**. San Diego: Academic press, 1994. 580 p.

FRANKLIN, G.L. A rapid method of softening wood for microtome sectioning. **Trop. woods**, v. 88, p. 35, 1946.

GEMTCHUJNICOV, I. D. **Manual de taxonomia vegetal**: plantas de interesse econômico. São Paulo: Ceres, 1976. 368 p.

GIFFORD, E.M.; FOSTER, A.S. **Morphology and evolution of vascular plants**. 3.ed. New York: W.H. Freeman and Company, 1989. 626 p.

GUERREIRO, Sandra M. **Técnica de inclusão de material vegetal em historresina**. Palestra proferida no I Encontro Regional de Anatomistas do Estado de São Paulo, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Rio Claro, 1995. 7 p.

HACKER, J.B.; MINSON, D.J. The digestibility of plant parts. **Herb. Abstr.**, v. 51, n. 9, p. 459-482, set. 1981.

HADDAD, A. Obtenção e coloração de cortes semi-finos. In: HADDAD, A *et al.* **Manual sobre técnicas básicas em microscopia eletrônica**. v. 1., Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica, 1989. p. 65-70

HÄFLIGER, E.; SCHOLZ, H. **Grass weeds 1-** Panicoideae. Basle-Switzerland: CIBA-GEIGY, 1980. 142 p.

\_\_\_\_\_. **Grass weeds 2-** Chlorideae, Pooideae e Oryzoideae. Basle-Switzerland: CIBA-GEIGY, 1981. 137 p.

HANNA, W.W.; MONSON, W.G.; BURTON, G.W. Histological examination of fresh forage leaves after in vitro digestion. **Crop Sci.**, v. 13, p. 98-102, jan./fev. 1973.

\_\_\_\_\_. Histological and in vitro digestion study of 1- and 4 - week stems and leaves from high and low quality bermudagrass genotypes. **Agron. J.**, v. 68, p. 219-222, mar./abr. 1976.

HAYWARD, H. **Estructura de las plantas utiles**. Buenos Aires: Acme, 1953. 667 p.

HILLESHEIM, A.; AGOSTINI, I.; STUKER, H. Produção e manejo de capim-elefante. **Agrop. catarinense.**, v. 8, n. 3, p. 48-53, set. 1995.

JACQUES, A.V.A Caracteres morfo-fisiológicos e suas implicações com o manejo. In: CARVALHO, M.M; ALVIM, M.J.; XAVIER, D.F.; CARVALHO, L. de A. **Capim-elefante: produção e utilização**. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1994. p. 31-47.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: Mc Graw Hill Book, 1940. 523 p.

JOHNSTON, M.J; WAITE, R. Studies in the lignification of grasses. I. Perennial rye-grass and cocksfoot. **J. Agric. Sci.**, v. 64, p. 211-219, 1965

KEFFORD, N.P. Lignification of plants in relation to ruminant nutrition. **J. Aust. Inst. agric. Sci.**, v. 24, p. 297-302, 1958.

LAETSCH, W.M. The C<sub>4</sub> syndrome: a structural analysis. **Ann. Rev. Plant Physiol.**, v. 25, p. 27-52, 1974.

LATHAN, M.J.; BROOKER, B.E.; PETTIPHER, G.L.; HARRIS, P.J. *Ruminococcus flavefaciens* cell coat and adhesion to cotton cellulose and to cell walls in leaves of perennial ryegrass (*Lolium perenne*). **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 35, n. 1, p. 156-165, jan. 1978.

LENTZ, E.M.; BUXTON, D.R. Digestion kinetics of orchardgrass as influenced by leaf morphology, fineness of grind, and maturity group. **Crop Sci.**, v.32, p. 482-486, mar./abr. 1992.

MAGAI, M.M.; SLEPER, D.A.; BEUSELINCK, P.R. Degradation of three warm-season grasses in a prepared cellulase solution. **Agron. J.**, v. 86, p. 1049- 1053, nov./dez. 1994

MAUSETH, J.D. **Botany- an introduction to plant biology**. 2 ed. Chicago: Saunders College Publishing, 1995. 794 p.

\_\_\_\_\_. **Plant anatomy.** Menlo Park-Califórnia: Benjamin/Cummings Publishing, 1988. 560 p.

McDOUGALL, E.I. Studies on ruminant saliva. I. The composition and output of sheep's saliva. **Biochem. J.**, v. 43, p. 99-109, 1948.

MELLOTI, L. Estudo comparativo da digestibilidade de gramíneas forrageiras com ovinos e bovinos. II. Digestibilidade do capim-elefante-napier na forma verde e como silagem. **B. Indústr. Anim.**, v. 40, n. 2, p. 267-277, jul./dez. 1983.

METCALFE, C.R. **Anatomy of monocotyledons**, I-Gramineae. Oxford: Clarendon Press, 1960. 731 p.

MILBY, T.H. The leaf anatomy of buffalo grass, *Buchloë dactyloides* (Nutt.) Engelm. **Bot. Gaz.**, v. 132, n. 4, p. 308-313, 1971.

MONSON, W.G.; POWELL, J.B.; BURTON, G.W. Digestion of fresh forage in rumen fluid. **Agron. J.**, v. 64, p. 231-233, mar./abr. 1972.

MORRISON, F.B. **Alimentos e alimentação dos animais.** 8 ed. São Paulo: Melhoramentos, 1955. 818 p.

NAPP-ZINN, K. Anatomie des Blates. II. A-1. Blattanatomie der Angiosperm. In: LINSBAUER, K. **Handbuch der Pflanzenanatomie.** Berlin: Gebrüder Borntraeger, 1973.

\_\_\_\_\_. Anatomie des Blates. II. A-2. Blattanatomie der Angiosperm. In: LINSBAUER, K. **Handbuch der Pflanzenanatomie.** Berlin: Gebrüder Borntraeger, 1974. 1424 p.

NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; VEIGA, J.S.M.; OLIVEIRA, M.E.M. *et al.* Estudo comparativo da digestibilidade aparente da matéria seca do capim napier (*Pennisetum purpureum* Schum.) em bovinos europeus (*Bos taurus*) e indianos (*Bos indicus*) **Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo**, v. 19, n. 1, p. 97-100, 1982.

- OLIVEIRA, B.A.D. de; FARIA, P.R.S.; SOUTO, S.M. *et al.* Identificação de gramíneas tropicais com via fotossintética C<sub>4</sub> pela anatomia foliar. **Pesq. agropec. bras., Sér. Agron.**, v. 8, p. 267-271, 1973.
- OTERO, J. R. **Informações sobre algumas plantas forrageiras.** 2.ed. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1961. 334 p.
- PLUT, D.L.; WERNER, J.C. Efeitos da época e de altura de corte sobre o teor de lignina de capim elefante napier. **B. Indústr. An.**, n. 24, p. 175-184, 1967.
- PUPO, N.I.H. **Manual de pastagens e forrageiras.** Campinas: IAC, 1980. 343 p.
- RODELLA, R.A. **Comunicação pessoal durante o 1º Encontro de Anatomistas do Estado de São Paulo.** Rio Claro, 08 set. 1995.
- RODELLA, R.A.; AYOUB, J.F.; MAIMONI-RODELLA, R.C.S. Estudos quantitativos de características anatômicas da folha de *Panicum maximum* Jacq. e *Panicum coloratum* L. **Rev. de Agricultura**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 163-174, 1984.
- RODELLA, R.A.; ISHIY, C.M.; MAIMONI-RODELLA, R.C.S; AMARAL JÚNIOR, A.A. Estudo quantitativo de características anatômicas de folhas de duas espécies de *Brachiaria*. **Rev. Agrociência**, Taubaté, v. 2, n. 2, p. 21-30, 1982.
- ROESER, K.R. Die nadel der schwarzkiefer massenprodukt und kunstwerk der natur. **Mikrokosmos**, v. 61, p. 31-36, 1972.
- SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Plant physiology.** 4.ed. Belmont: Wadsworth, 1992. 682 p.
- SHARMA, O.P.; MEHRA, P.N. Systematic anatomy of *Fimbristylis* Vahl (Cyperaceae). **Bot. Gaz.**, v. 133, n. 2, p. 87-95, jun. 1972.

- SHAW, R.B.; SMEINS, F.E. Some anatomical and morphological characteristics of the north american species of *Eriochloa* (Poaceae: Paniceae). **Bot. Gaz.**, v. 142, n. 4, p. 534-544, 1981.
- SILVEIRA, A.C.; TOSI, H.; FARIA, V.P de. Efeito da maturidade sobre a composição química bromatológica do capim napier (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Rev. Soc. Bras. Zoot.**, v. 3, n. 2, p. 158-171, 1974.
- SMITH, L.B.; WASSHAUSEN, D.C.; KLEIN, R.M. Gramíneas. **Flora Ilustrada Catarinense**, Parte I, Fasc. GRAM.. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1982. 1407 p.
- SOUZA, A.G. de. Capim-elefante. **Anais do Curso de Atualização em Pastagens** (1989: Cascavel). Cascavel: OCEPAR, 1991. p. 153-164
- STEBBINS, G.L.; KHUSH, G.S. Variation in the organization of the stomatal complex in the leaf epidermis of monocotyledons and its bearing on their phylogeny. 1961, *Am. J. Bot.*, v.48, p. 51-59. In: FAHN, A. **Anatomia vegetal**, 2 ed. Madrid: H. Blume, 1974.
- STRITTMATTER, C.G.D. Nueva tecnica de diafanização. **Bol. Soc. Argentina Bot.**, v. 15, n. 1. 1973. p. 126-129.
- TCACENCO, F.A.; BOTREL, M. de A. Identificação e avaliação de acessos e cultivares de capim-elefante. In: CARVALHO, M.M; ALVIM, M.J.; XAVIER, D.F.; CARVALHO, L. de A. (Eds.) **Capim-elefante: produção e utilização**. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1994. p. 1-30.
- TCACENCO, F.A.; LANGE, G.N. Selection of morphological traits for characterization of elephant grass accessions. **Trop. Grass.**, v. 26, p. 145-155, 1992.
- THOMPSON, R.A.; ESTES, J.R. Anthecial and foliar micromorphology and foliar anatomy of *Brachiaria* (Poaceae: Paniceae). **Amer. J. Bot.**, v. 73, n. 3, p. 398-408, 1986.

- VEIGA, J.B. da; MOTT, G.O.; RODRIGUES, L.R. de A. *et al.* Capim-elefante anão sob pastejo. II. Valor nutritivo. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 20, n. 8, p. 937-944, ago. 1985.
- VENTRELLA, M.C. **Anatomia quantitativa e composição bromatológica de folha e caule de três espécies de *Cynodon* Rich.** Botucatu, 1995. Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências, UNESP/Botucatu. 127 p.
- VENTRELLA, M.C.; RODELLA, R.A. Anatomia e composição bromatológica da folha de três espécies de *Cynodon* Rich. (Poaceae). **26º Congresso Nacional de Botânica**, Nova Friburgo-RJ, p. 251, jul. 1996. Resumo.
- WILKINS, R.J. The potential digestibility of cellulose in forages and faeces. **J. Agric. Sci.**, Cambridge, v. 73, p. 57-64, 1969.
- WILKINS, R.J. The potential digestibility of cellulose in grasses and its relationship with chemical and anatomical parameters. **J. Agric. Sci.**, Cambridge, v. 78, p. 457-464, 1972.
- WILSON, J.R. Influence of plant anatomy on digestion and fibre break down. In: AKIN, D.E. *et al.* (ed) **Microbial and plant opportunities to improve the utilization of lignocellulose by ruminants.** New York: Elsevier Sci. Publ. Co., 1990. p. 99-117.
- \_\_\_\_\_. Organization of forage plant tissues. In: JUNG, H.G; BUXTON, D.R.; HATFIELD, R.D.; RALPH, J. **Forage cell wall structure and digestibility.** Madison, American Society of Agronomy, 1993. p. 1-32
- \_\_\_\_\_. Variation of leaf characteristics with level of insertion on a grass tiller. I. Development rate, chemical composition and dry matter digestibility. **Aust. J. Agric. Res.**, v. 27, p. 343-354, 1976a.
- \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. II. Anatomy. **Aust. J. Agric. Res.**, v. 27, p. 355-364, 1976b.

WILSON, J.R.; AKIN, D.E.; McLEOD, M.N.; MINSON, D.J. Particle size reduction of the leaves of a tropical and a temperate grass by cattle. Relation of anatomical structure to the process of leaf breakdown through chewing and digestion. **Grass For. Sci.**, v. 44, p. 65-75, 1989.

WILSON, J.R.; BROWN, R.H.; WINDHAM, W.R. Influence of leaf anatomy on the dry matter digestibility of C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> and C<sub>3</sub> / C<sub>4</sub> intermediate types of *Panicum* species. **Crop Sci.**, v. 23, p. 141-146, jan./fev. 1983.

WILSON, J.R.; DEINIUM, B.; ENGELS, F.M. Temperature effects on anatomy and digestibility of leaf and stem of tropical and temperate forage species. **Neth. J. Agric. Sci.**, v.39, p. 31-48, 1991.

WILSON, J.R.; TAYLOR, A. O.; DOLBY, G.R. Temperature and atmospheric humidity effects on cell wall content and dry matter digestibility of some tropical and temperate grasses. **N. Z. J. Agric. Res.**, v. 19, p. 41-46, 1976.