



JANAÍNA MAURI

**ANATOMIA FOLIAR DE BRACHIARIA
SPP. EM DIFERENTES IDADES DE REBROTA
ASSOCIADA COM A QUALIDADE DA
FORRAGEM**

LAVRAS - MG

2015

JANAÍNA MAURI

**ANATOMIA FOLIAR DE BRACHIARIA SPP. EM DIFERENTES
IDADES DE REBROTA ASSOCIADA COM A QUALIDADE DA
FORRAGEM**

Tese apresentada à Universidade Federal de
Lavras como parte das exigências do Programa
de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, para
a obtenção do título de Doutor.

Dr. Lisete Chamma Davide
(Orientadora)

Dr. Fabricio José Pereira
Dr. Fausto de Souza Sobrinho
Dr. Vânia Helena Techio
(Coorientadores)

LAVRAS –MG

2015

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Mauri, Janaína .

Anatomia foliar de *Brachiaria* spp. em diferentes idades de rebrota associada com a qualidade da forragem / Janaína Mauri. –
Lavras : UFLA, 2015.

71 p. : il.

Tese(doutorado)–Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador(a): Lisete Chamma Davide.

Bibliografia.

1. Melhoramento genético. 2. Poáceas. 3. Esclerênquima. 4.
Lignina. 5. Digestibilidade. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.

JANAÍNA MAURI

**ANATOMIA FOLIAR DE BRACHIARIA SPP. EM DIFERENTES
IDADES DE REBROTA ASSOCIADA COM A QUALIDADE DA
FORRAGEM**

Tese apresentada à Universidade Federal de
Lavras como parte das exigências do Programa
de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, para
a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 30 de novembro de 2015.

Dr. Fabrício José Pereira	UFLA
Dr. Fausto de Souza Sobrinho	EMBRAPA
Dr. Marinês Ferreira Pires	UFLA
Dr. Thiago Corrêa de Souza	UNIFAL

Dr. Lisete Chamma Davide
(Orientadora)

LAVRAS - MG
2015

Aos meus pais, aos meus irmãos e à minha avó (*in memoriam*).

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela oportunidade de realizar este trabalho;

A minha família, pelo apoio e torcida;

Aos meus grandes amigos e colegas que fiz no decorrer desses anos no doutorado, em especial à Carol e seu noivo Fernando que me acolheram nos últimos meses de doutorado.

A todos os meus colegas do programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, pois conseguimos passar juntos por todas as disciplinas, provas, trabalhos e experimentos sempre com bom humor.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial ao Programa de Pós- Graduação em Botânica Aplicada, pela oportunidade;

À Embrapa Gado de Leite, em especial ao pesquisador Fausto, pelo apoio e disponibilização do material para a realização dos experimentos realizados na tese, e pelo auxílio financeiro na condução da pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida durante a realização do curso.

À professora Vânia pelo apoio;

À professora Lisete pelo apoio, paciência e ensinamentos durante o doutorado;

Ao professor Fabrício pelo apoio, ensinamentos e paciência no direcionamento do experimento em laboratório;

Aos colegas do laboratório de citogenética e anatomia vegetal, em especial à Daniele, Gabriele e Márcio pela ajuda e prontidão durante esse tempo;

A todos os colegas que direta ou indiretamente, ajudaram-me a concluir mais essa etapa...

OBRIGADA.

RESUMO

Com o presente trabalho objetivou-se verificar se existe efeito na idade de rebrota de diferentes genótipos na anatomia foliar de *Brachiaria* spp., e como isso pode afetar sua qualidade como forragem. Foram avaliados tecidos foliares dos genótipos de *Brachiaria brizantha* (Hochst.) Stapf. (cv Marandú), *Brachiaria decumbens* Stapf. Prain. (cv. Basilisk), *Brachiaria ruziziensis* (R. Germ & Evrad) (cv. Kennedy) e de três clones (1, 95 e 97) de *Brachiaria ruziziensis*. Essas plantas foram cultivadas em condições ideais recomendadas para o cultivo de *Brachiaria*. Inicialmente, as folhas foram coletadas, em três idades de rebrota para determinar qual seria a idade ideal, posteriormente, com a idade ideal fixada foram comparados os genótipos dentro da idade ideal. Utilizando a microtécnica usual foram realizados cortes a mão livre e confeccionadas lâminas semipermanentes. Foram realizadas fotomicrografias e avaliadas proporções dos tecidos na região internervural e da nervura mediana utilizando o software de imagens *Image J*. Para a determinação da idade de rebrota o delineamento foi inteiramente casualizado com três tratamentos e nove repetições, e para comparar os genótipos o delineamento foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e seis repetições. As análises estatísticas foram realizadas no software Sisvar, e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott. Com o tempo, aos 8 dias de rebrota os tecidos já apresentavam diferenciação, mas não apresentavam total expansão como observado aos 15 dias, esse processo se prolongou até os 29 dias de rebrota, entretanto, nessa data ocorreu maior deposição de tecidos lignificados. Com o tempo, aos 8 dias de rebrota os tecidos já apresentavam diferenciação, mas não apresentavam total expansão como observado aos 15 dias, esse processo se prolongou até os 29 dias de rebrota, entretanto, nessa data ocorreu maior deposição de tecidos lignificados. Na maior parte dos genótipos avaliados, foi observado menor quantidade de fibras aos 15 dias em comparação aos 29 dias de rebrota. Além disso, aos 15 dias pode-se observar maior quantidade de parênquima em relação aos 8 dias de rebrota. Com a idade ideal de 15 dias de rebrota fixada, foram comparados os genótipos e observado que o Clone 1 de *B. ruziziensis* apresentou maior proporção de parênquima, e menores proporções de tecidos lignificados como de feixes vasculares e xilema. O mesmo comportamento foi observado em *B. decumbens*. Pode-se observar que a idade de rebrota modifica a porcentagem de tecidos em *Brachiaria* sp ocasionando o aumento das fibras e feixes vasculares aos 29 dias de rebrota, e que estrutura anatômica foliar é diferente entre os genótipos avaliados, entre eles *B. decumbens* e o Clone 1 de *B. ruziziensis* possuem tecidos com maior potencial de digestibilidade.

Palavras-chave: Melhoramento genético. Poáceas. Esclerênquima. Lignina. Digestibilidade.

ABSTRACT

The present work intended to verify whether there is an effect upon the regrowth age of different genotypes in the leaf anatomy of *Brachiaria* spp., and how that can affect its quality as a forage plant. Leaf tissues of the genotypes of *Brachiaria brizantha* (Hochst.) Stapf. (cv Marandu), *Brachiaria decumbens* Stapf. Prain. (cv. Basilisk), *Brachiaria ruziziensis* (R. Germ & Evrad) (cv. Kennedy) and of three clones (1, 95 and 97) of *Brachiaria ruziziensis* were evaluated. Those plants were cultivated under ideal conditions recommended for the cultivation of *Brachiaria*. At first, the leaves were collected at three regrowth ages to determine which would be the ideal age; afterwards, with the ideal age determined, the genotypes within the ideal age were compared. By making use of the usual microtechnique, sections free hand were done and semipermanent slides were manufactured. Photomicrographs and proportions of the tissues in the interveinal region and of the midrib were done utilizing the image software *Image J*. for the determination of the regrowth age the design was completely randomized with three treatments and nine replications and to compare the genotypes the design was completely randomized with six treatments and six replications. The statistical analyses were conducted on software Sisvar and the means compared by the Scott-Knott test. Over time, at 8 days of regrowth the tissues already presented differentiation, but they did not present full expansion as observed at 15 days, this process lasted till the 29 days' regrowth, however at that date, increased deposition of lignified tissues occurred. In most of the genotypes evaluated, smaller amount of fibers was observed at 15 days as compared with the 29 days' regrowth. In addition, one can observe at 15 days increased amount of parenchyma in relation to the 8 days of regrowth. With the ideal age of 15 days of regrowth set, the genotypes were compared and it was found that Clone 1 of *B. ruziziensis* presented greatest proportion of parenchyma and smallest proportions of lignified tissues like of vascular bundles and xylem. The same behavior was observed in *B. decumbens*. One can state that the regrowth age modifies the percentage of tissues in *Brachiaria* sp bringing about increase of fibers and vascular bundles at 29 days of regrowth and that anatomical leaf structure is different among the genotypes evaluated, among them, *B. decumbens* and the Clone 1 of *B. ruziziensis* possess tissues with greatest digestibility potential.

Key words: Genetic improvement. Poaceae, Sclerenchyma. Lignin. Digestibility.

LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO 1 - O TEMPO DE REBROTA MODIFICA AS CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS DAS FOLHAS DE GENÓTIPOS DE *BRACHIARIA* SPP. AFETANDO SUA QUALIDADE COMO FORRAGEM

- Figura 1 Modificações nos tecidos na região internervural da lâmina foliar de *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. ruziziensis*, Clone 1, Clone 95 e Clone 97 em diferentes datas de rebrota. Médias seguidas pela mesma letra dentro de um mesmo genótipo não são significativamente diferentes pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. A- Proporção da epiderme da face adaxial (EAD%); B- proporção da epiderme da face abaxial (EAB%); C- proporção do parênquima clorofiliano (PAR%); D- proporção da média da área do floema em um único feixe vascular (FLFV%); E- proporção do somatório das áreas das bainhas nos feixes vasculares (BAINHA%) UFLA, Lavras, MG, 2015..... 33
- Figura 2 Anatomia quantitativa na região internervural de *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. ruziziensis*, Clone 1, Clone 95 e Clone 97, nas diferentes datas de rebrotas. Médias seguidas pela mesma letra nas barras não são significativamente diferentes pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. A- Proporção do somatório das áreas dos feixes vasculares (FVT%); B- proporção da média da área do xilema em um único feixe vascular (XLFV%); C- proporção da média da área das fibras em um feixe vascular (FBFV%). UFLA, Lavras, MG, 2015..... 35
- Figura 3 Anatomia quantitativa na região da nervura mediana de *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. ruziziensis*, Clone 1, Clone 95 e Clone 97, nas diferentes datas de rebrotas. Médias seguidas pela mesma letra nas barras não são significativamente diferentes pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. A- Proporção da epiderme da face adaxial (EAD%); B- proporção da epiderme da face abaxial (EAB%); C- proporção do parênquima clorofiliano (PAR%); D- proporção da média da área do floema em um único feixe vascular (FLFV%); E- proporção do somatório das áreas das bainhas dos feixes vasculares (BAINHA%). UFLA, Lavras, MG, 2015..... 36
- Figura 4 Anatomia quantitativa na região da nervura mediana de *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. ruziziensis*, Clone 1, Clone 95 e Clone 97, nas diferentes datas de rebrotas. A- Proporção do somatório das áreas dos feixes vasculares (FVT%); B- proporção da média da área do xilema em um único feixe vascular (XLFV%); C- proporção da média da área das fibras em um feixe vascular (FBFV%). UFLA, Lavras, MG, 2015..... 38
- Figura 5 Estrutura anatômica em secção transversal, da região do internervural, indicando os dias de rebrota de *B. brizantha* (A, B e C), *B. decumbens* (D, E e F), *B. ruziziensis*

	(G, H e I), Clone 1 (J, K e L), Clone 95 (M, N e O) e Clone 97 (P, Q e R). Barra= 50 µm. UFLA, Lavras, MG, 2015.....	38
Figura 6	Estrutura anatômica em secção transversal, da região da nervura mediana, indicando os dias de rebrota de <i>B. brizantha</i> (A, B e C), <i>B. decumbens</i> (D, E e F), <i>B. ruziziensis</i> (G, H e I), Clone 1 (J, K e L), Clone 95 (M, N e O) e Clone 97 (P, Q e R). Barra= 100 µm. UFLA, Lavras, MG, 2015.....	41

LISTAS DE TABELAS

ARTIGO 2- AVALIAÇÃO DO POTENCIAL PARA FORRAGEM DA FOLHA DE DIFERENTES GENÓTIPOS DO GÊNERO *BRACHIARIA* POR MEIO DA ANATOMIA VEGETAL

Tabela 1	Proporção dos tecidos foliares de genótipos de <i>Brachiaria</i> spp., aos 15 dias de rebrota, na região internervural. UFLA, Lavras, MG, 2015.....	44
Tabela 2	Proporção dos tecidos foliares de genótipos de <i>Brachiaria</i> spp., aos 15 dias de rebrota, na região da nervura mediana. UFLA, Lavras, MG, 2015.....	47

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE.....	13
1 INTRODUÇÃO GERAL	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1 ASPECTOS BOTÂNICOS DO GÊNERO <i>BRACHIARIA</i> (TRINIUS) GRISEBACH (SYN. <i>UROCHLOA</i>)	14
2.2 MELHORAMENTO DE FORRAGEIRAS.....	15
2.3 HISTÓRICO E A IMPORTÂNCIA DO MELHORAMENTO GENÉTICO DO GÊNERO <i>BRACHIARIA</i>	16
2.4 IMPORTÂNCIA DA IDADE DA FORRAGEM	19
2.4 DIGESTIBILIDADE DA FORRAGEM E CONTRIBUIÇÃO DA ANATOMIA VEGETAL NO MELHORAMENTO DE FORRAGEIRAS	20
3 REFERÊNCIAS	22
SEGUNDA PARTE.....	26
ARTIGO 1. O TEMPO DE REBROTA MODIFICA A ANATOMIA FOLIAR DE <i>BRACHIARIA</i> SPP. COM POSSÍVEIS EFEITOS NA SUA QUALIDADE COMO FORRAGEM.....	26
RESUMO	26
1 INTRODUÇÃO.....	28
2 MATERIAL E MÉTODOS	29
2.1 MATERIAL VEGETAL.....	29
2.2 ANÁLISE ANATÔMICA	30
2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
3 RESULTADOS	32
3.1 REGIÃO INTERNERVURAL.....	32
3.2 NERVURA MEDIANA	36
3.3 DESENVOLVIMENTO FOLIAR.....	38
4 DISCUSSÃO	41
4 CONCLUSÃO	45
5 REFERÊNCIAS	46

ARTIGO 2. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL PARA FORRAGEM DA FOLHA DE DIFERENTES GENÓTIPOS DO GÊNERO <i>BRACHIARIA</i> POR MEIO DA ANATOMIA VEGETAL.....	49
RESUMO	49
ABSTRACT	50
1 INTRODUÇÃO.....	51
2 MATERIAL E MÉTODOS	53
2.1 MATERIAL VEGETAL E PROPAGAÇÃO DAS PLANTAS	53
2.2 ANÁLISE ANATÔMICA	53
2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	55
3 RESULTADOS	55
3.1 ANATOMIA QUANTITATIVA.....	55
3.1.1 Região Internervural.....	55
3.1.2 Região da Nervura Mediana	57
3.2 ANATOMIA QUALITATIVA	60
3.2.1 Região internervural	60
3.2.2 Região da nervura mediana	62
4 DISCUSSÃO	64
5 CONCLUSÕES	68
6 REFERÊNCIAS.....	68

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

A qualidade e produção dos pastos brasileiros posicionaram o país no patamar competitivo no agronegócio da carne e do leite no mercado internacional (SILVA; NASCIMENTO JÚNIOR; EUCLIDES, 2008). Não somente nesse setor, o país apresenta também destaque na produção de sementes forrageiras tropicais (VALLE et al., 2008). Por isso, o país apresenta uma grande representatividade nas pesquisas que visam o melhoramento das forrageiras tropicais (VALLE et al., 2008), sendo de grande necessidade pesquisas por meio de equipes multidisciplinares (VALLE; JANK; RESENDE, 2009).

Entre os atributos para avaliar a qualidade da forragem, é necessário o conhecimento da data de rebrota, sabendo que a maturação dos tecidos proporciona o declínio da qualidade nutricional (MOURA et al., 2014). Isso porque, com a idade de rebrota avançada, existe o comprometimento da digestibilidade da forragem no pasto, proporcionado pela lignificação dos tecidos (BRITO; DESCHAMPS, 2001; PACIULLO et al., 2002; COSTA et al., 2007), além de comprometer a palatabilidade para o ruminante (JERBA; MEDEIROS; FERNANDES, 2004).

Estudos visando a produtividade de forrageiras mostraram que há variação nas datas de rebrota para diferentes espécies. Moura et al. (2014) constataram que 30 a 35 dias foram as melhores datas de rebrota para espécies do gênero *Stylosanthes*. Para genótipos de *Brachiaria brizantha*, Costa et al. (2007) verificaram que as melhores datas de rebrota foram de 28 a 42 dias. Já Costa et al. (2011) verificaram que 49 e 56 dias de rebrota foram os períodos mais adequados para a forrageira *Trachypogon vestitus*. Entretanto,, tais autores não consideraram que o aumento da idade leva as modificações histológicas e lignificação dos tecidos, além do espessamento da parede celular e adensamento

das células (PACIULLO, 2002; BRITO et al., 1999). Dentre essas características, a alta lignificação dos tecidos caracteriza a baixa qualidade nutricional da forragem, devido à maior quantidade de esclerênquima e xilema que proporcionam o declínio da digestibilidade (BRITO et al., 1999; PACIULLO, 2002; PACIULLO et al 2002).

Uma das ferramentas utilizadas para avaliar tecidos com maior potencial de digestibilidade é a anatomia vegetal, a qual permite a comparação de espécies ou cultivares quanto ao potencial de digestibilidade, baseando-se no percentual de tecidos foliares (BRITO; RODELLA; DESCHAMPS, 2004). Essa ferramenta permite também a avaliação de genótipos promissores no melhoramento de forrageiras (SANTOS et al., 2013). Sendo uma ferramenta que permite a obtenção de resultados em curto prazo, a partir de baixos investimentos, além de evitar a utilização de animais *in vivo* nas pesquisas. Nesse sentido, com o presente trabalho objetivou-se realizar a caracterização de folhas de *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens* e de genótipos de *Brachiaria ruziziensis*, utilizando anatomia quantitativa, em diferentes idades de rebrota e avaliar a associação dessas características e o potencial de digestibilidade das regiões foliares dos genótipos avaliados.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos botânicos do Gênero *Brachiaria* (Trinius) Grisebach (Syn. *Urochloa*)

O gênero *Brachiaria* (Syn. *Urochloa*) pertence à família Poaceae, cujas plantas são herbáceas, com caules (colmos) arredondados ou achatados, ocos ou sólidos, apresentando nós e entrenós, com as folhas paralelinérveas, dísticas, e compostas de bainha e a lâmina. Na junção da lâmina com a bainha, na parte inferior, há um pequeno apêndice (lígula) que é membranáceo podendo ser

reduzido a um anel de tricomas. As Poáceas podem ser anuais ou perenes (CHASE; SENDULSKY, 1991).

As espécies do gênero *Brachiaria*, pertencentes a tribo Paniceae, são plantas herbáceas, eretas ou prostradas, anuais ou perenes, emitem raízes adventícias nos nós em contato com o solo. A bainha foliar é glabra ou pilosa. A lígula é branca e hialina constituída por curto anel membranáceo; lâmina foliar desenvolvida, lanceolada de ápice acuminado, glabra ou pilosa. A inflorescência é formada por racemos unilaterais ou paniculiforme. A ráquis é triangular, angulada ou alada, glabra nas bordas. As espiguetas são solitárias ou aos pares (LEITÃO FILHO, 1977).

Existe um grande impasse quanto à classificação do gênero *Brachiaria*. Alguns autores propõem a união das espécies de *Brachiaria* às do gênero *Urochloa*, baseados em análises moleculares de DNA ribossomal e em características morfológicas (GONZÁLEZ; MORTON, 2005). De acordo com Valle (2015), nos Estados Unidos e Austrália é utilizada a denominação *Urochloa*, contudo, no Brasil, conserva-se a denominação *Brachiaria*.

2.2 Melhoramento de forrageiras

O objetivo principal dos programas de melhoramento de forrageiras é de criar e selecionar genótipos que respondam às exigências dos produtores, e do mercado, apresentando soluções de problemas e ajustando deficiências de cultivares existentes (VALLE et al., 2008). Dentre as características avaliadas e selecionadas está a qualidade da forragem, produção de sementes, resistência a pragas e doenças, persistência, tolerância à salinidade e tolerância ao alumínio do solo. E por meio desse conjunto de características, faz-se necessário obter uma forrageira de melhor qualidade resultando na eficiência da produção animal (ARAÚJO; DEMINICIS; CAMPOS, 2008; SOUZA SOBRINHO et al., 2009).

Além disso, o valor final de uma planta forrageira não está em sua produção maior, mas em proporcionar maior produção de proteína animal na forma de carne, leite, couro ou pele (VALLE et al., 2008; SOUZA SOBRINHO et al., 2009). Outro fator que o melhoramento de forrageiras proporciona, é a diversificação de pastagens tropicais do país, por meio da disponibilização de cultivares melhoradas (VALLE et al., 2008).

É possível verificar na literatura recente, aumento de informações referentes ao melhoramento genético de forrageiras tropicais utilizando cultivares melhoradas, ou em processo de melhoramento. Alguns exemplos são os trabalhos de Souza Sobrinho et al., (2005) que trabalharam com híbridos de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) e milheto (*P. glaucum* (E.) Leek); Santos et al. (2013), que avaliaram 38 genótipos de *Brachiaria ruziziensis*; Souza; Auad; Lédo (2010) que avaliaram a resistência quanto a cigarrinhas de Clones de *B. ruziziensis*. Além desses trabalhos existem outros que apresentam informações moleculares, citogenéticas, além de informações sobre o começo do melhoramento de forrageiras tropicais no país, e informações de cultivares lançadas e/ou em processo de melhoramento, como os trabalhos de Jank; Valle; Resende (2004-2005), Valle; Jank; Resende (2009), Euclides et al. (2010), Jank; Valle; Resende (2011).

2.3 Histórico e a importância do melhoramento genético do gênero *Brachiaria*

No Brasil, forrageiras do gênero *Brachiaria* apresentaram ótima adaptação aos solos ácidos e de baixa fertilidade natural, favorecendo a sua rápida expansão nos cerrados brasileiros e savanas da América tropical (VALLE et al., 2008).

No final da década de 1970, as plantações de forragens lidaram com muitos ataques de cigarrinha-das-pastagens (*Deois flavopicta* e *Zulia entreriana*)

tornando-se um sério problema para a pecuária brasileira, com isso, houve grande necessidade do desenvolvimento de cultivares resistentes a essas pragas (ARAÚJO; DEMINICIS; CAMPOS, 2008). Além disso, nos últimos anos, o avanço da produção de cereais no Brasil, proporcionou uma redução da área total de pastagens cultivadas, desafiando a pecuária nacional a aumentar a produção de carne e leite em áreas de pastagens gradativamente mais restritas (JANK; RESENDE; VALLE, 2004-2005). Por esses motivos, a necessidade de obtenção de cultivares de forrageiras mais resistentes a pragas, e com alta qualidade estimulou o início dos estudos de melhoramento de forrageira no país, a partir da década de 1980 (JANK; RESENDE; DO VALLE, 2004-2005; RESENDE et al., 2015). A diversidade de germoplasma de forrageiras era escassa até a realização das coletas na década de 1980 no Leste e Sul da África com o suporte do International Plant Genetic Resources Institute (Ipagri) e colaboração do International Livestock Center for Africa (IICA). As principais coleções de germoplasma mundial estão na Colômbia, no Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Etiópia (IICA) e no Brasil (Embrapa). Nos programas de melhoramento, grande parte desse germoplasma básico ainda se encontra intacto pela falta de conhecimentos básicos e equipes estruturadas para desenvolvê-los (VALLE et al., 2008). Além disso, para se obter sucesso no melhoramento genético das espécies de gramíneas, é de grande necessidade possuir recursos genéticos representativos da variabilidade natural das espécies. Entretanto, grande parte dessas espécies exóticas de gramíneas apresentam origem de difícil acesso, proveniente do continente africano (JANK; RESENDE; DO VALLE, 2004-2005).

No Brasil, a maioria das espécies comerciais de braquiárias reproduz-se essencialmente por apomixia, por este motivo, existe grande dificuldade de criar novas variedades. Até o momento, as espécies passíveis de melhoramento genético são *B. brizantha*, *B. decumbens* e *B. ruziziensis* (VALLE et al., 2008).

Um breve histórico dessas espécies, mostra que a primeira introdução de *B. decumbens* foi realizada pelo Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuária Norte (IPEAN) em 1965, material vegetativo trazido da Universidade da Flórida (SEIFFERT, 1980). O segundo tipo, dessa espécie, veio para São Paulo em 1970, proveniente da Austrália, mas de origem Africana, denominada cultivar Basilisk ou braquiária australiana (SOARES FILHO, 1996). Na Austrália, esta cultivar foi selecionada pela alta produtividade em testes em South Johnstone entre 1956 e 1966 (VALLE et al., 2008).

Após a introdução no Brasil, a cultivar Basilisk australiana, apresentou grandes retornos quanto a produção e adaptação as condições tropicais, sendo plantada em larga escala no Brasil, tornando-se na época, a principal forrageira no país (SOARES FILHO, 1996).

Entretanto,, na mesma década, a cultivar Basilisk mostrou desvantagens quanto aos efeitos de fotossensibilidade e susceptibilidade à cigarrinha da pastagem (KARIA; DUARTE; ARAÚJO, 2006). No ano de 1984 a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) lançou a cultivar Marandu de *B. brizantha* (JANK; VALLE; RESENDE, 2011). Esta forrageira possui origem africana, e após o processo de melhoramento tornou-se, no país, a mais difundida até os dias atuais, por apresentar características favoráveis quanto à produção, qualidade, além de ser resistente a cigarrinha da pastagem (VALLE et al., 2008). Na mesma década da introdução da cultivar australiana *B. decumbens*, também ocorreu a introdução de *B. ruziziensis* no país, de procedência da Austrália (KARIA; DUARTE; ARAÚJO, 2006). Esta espécie apresenta melhor aceitação pelo bovino em decorrência de seu bom valor nutritivo, apresentando boa qualidade. Estudos com esta espécie, a qual passa por processo de seleção, apresentaram resultados promissores que podem superar as cultivares lançadas até o momento no mercado, entretanto, pesquisas ainda se encontram em andamento. Outra vantagem de *B. ruziziensis*, é a sua reprodução sexuada, que

permite a variabilidade genética no processo de seleção de melhores genótipos (SOUZA SOBRINHO et al., 2009).

Atualmente, existe grande esforço no melhoramento tanto de *B. ruziziensis* quanto de *B. decumbens*, as quais são espécies muito promissoras para os novos programas de melhoramento, pois ambas as espécies, possuem alta aceitação pelos bovinos e bom valor nutritivo (JANK; VALLE; RESENDE, 2011). Lembrando que, por apresentar reprodução por meio da apomixia, era impossível a produção de cultivares melhoradas de *B. decumbens*, devido à falta de ecotipos compatíveis (MENDONÇA et al., 2013).

De modo geral, o melhoramento de forrageiras, proporciona a produção de plantas mais resistentes a pragas, com maior qualidade nutricional da forragem, resultando no melhoramento dos produtos derivados do bovino (EUCLIDES et al., 2010; JANK; VALLE; RESENDE, 2011). Outro fato interessante, é que o melhoramento da qualidade nutricional na alimentação dos ruminantes, proporcionará diminuição dos gases entéricos lançados na atmosfera, os quais agravam o efeito estufa (OLIVEIRA et al., 2007).

2.4 Importância da idade da forragem

O conhecimento da idade ideal da rebrota é de grande importância, pois interfere diretamente na sua qualidade (MOURA et al., 2014). Além disso, esse conhecimento é de grande importância para a liberação dos pastos para os ruminantes (SILVA; NASCIMENTO JÚNIOR; EUCLIDES, 2008) isso porque a qualidade nutricional da forragem é perdida com o aumento da idade (COSTA et al., 2007). Esta perda de qualidade da forragem está relacionada com a deposição de lignina, espessamento das paredes celulares nas regiões dos feixes vasculares e aumento da área do esclerênquima, reduzindo assim as áreas de fácil digestibilidade (HANNA; MONSON; BURTON, 1973; JUNG; VOGEL,

1986; BRITO; DESCHAMPS, 2001; PACIULLO et al., 2002). Isso porque, a absorção dos nutrientes pelo organismo do ruminante é impedida devido à formação de barreiras lignificadas na parede celular, restringindo a entrada dos microrganismos responsáveis pela degradação dos nutrientes presentes no interior da célula (AKIN, 1989).

Além da lignificação produzida com a maturidade, pode ocorrer também o desenvolvimento de outros compostos que prejudicam o valor nutricional comprometendo a palatabilidade da forragem aos ruminantes, como a presença de taninos, sílica e terpenoides (JERBA; MEDEIROS; FERNANDES, 2004). Deve-se ressaltar ainda, que até o estágio de maturação, a planta passa por muitas divisões e diferenciações celulares, formando quantidades distintas de células nos específicos tecidos vegetais (BECK, 2010). Para isso, a anatomia vegetal é um instrumento interessante na avaliação estrutural de diferentes tecidos da forragem, quanto ao acompanhamento da maturidade (BRITO; RODELLA; DESCHAMPS, 2004). É possível identificar o efeito negativo ou positivo dos tecidos vegetais quanto ao potencial de digestibilidade por meio da mensuração de suas proporções nas regiões foliares da forragem (BRITO et al., 1999; PACIULLO et al., 2002; PACIULLO, 2002).

2.4 Digestibilidade da forragem e contribuição da anatomia vegetal no melhoramento de forrageiras

É de grande importância o conhecimento da anatomia foliar das forrageiras devido a sua influência sobre a digestibilidade, isso porque, cada tecido pode apresentar-se de forma distinta quanto ao espessamento e lignificação da parede celular arranjo adensado das células (PACIULLO, 2002; BRITO et al., 1999). Dentre essas características, um dos componentes de maior interferência na digestibilidade é a lignina, a qual proporciona rigidez às paredes

celulares proporcionando a perda da qualidade da forragem (JERBA; MEDEIROS; FERNANDES, 2004). Isso porque, os nutrientes presentes no interior das células lignificadas não são degradados no processo de digestão devido à presença das paredes celulares lignificadas, sendo expulsos do organismo do ruminante na forma de excretas (AKIN, 1989).

Avaliando o fenômeno de digestibilidade dos tecidos, pode-se observar que o parênquima do mesófilo, e o floema apresentam melhor digestibilidade em relação à epiderme e células da bainha do feixe vascular, as quais apresentam digestibilidade parcial ou lenta, já o xilema e esclerênquima não são digeridos devido à lignificação da parede celular desses tecidos (AKIN, 1989). Como verificado por Brito et al. (1999), pode-se considerar que a degradação dos tecidos de forrageiras apresenta a seguinte ordem decrescente de degradação: parênquima > floema > epiderme > bainha parenquimática > xilema e esclerênquima. Obedecendo esta ordem de degradação de tecidos, na digestão, deve-se considerar ainda, que na biota ruminal, a degradação da parede celular é determinada pela capacidade dos microrganismos ultrapassarem a estrutura da parede celular (BRITO et al., 1999; PACIULLO et al., 2002).

Na literatura pode-se encontrar muitos trabalhos que utilizam a anatomia vegetal como instrumento para auxiliar na avaliação do potencial de digestibilidade em tecidos de forrageiras, dentre esses trabalhos encontram-se Bauer et al. (2008) que avaliaram a influência das características anatômicas e dos sítios de lignificação dos tecidos sobre o valor nutritivo de laminas foliares de *Melinis minutiflora* Pal. De Beauv, *Brachiaria decumbens* Staph., *Imperata brasiliensis* Trin. e *Hyparrhenia rufa* (Nees) Staph. amostradas nas estações chuvosa e seca e verificaram que os baixos coeficientes de digestibilidade foram relacionados às elevadas proporções de xilema e esclerênquima. Mauri et al. (2015) utilizaram a anatomia vegetal para avaliar quantidade de lignina em fibras de folhas de *Brachiaria brizantha*, *B. decumbens* e *B. ruziziensis* e

verificaram menores quantidades desse componente em fibras de folhas de *B. brizantha*. Além disso, pode-se utilizar esse instrumento para avaliar genótipos promissores, como o trabalho de Santos et al. (2013) que avaliaram 38 genótipos de *B. ruziziensis* e identificaram sete tipos de genótipos promissores examinados a partir das variações anatômicas nos períodos de chuva e de seca. Gomes et al. (2011), também utilizaram a anatomia e a morfofisiologia de folhas, para verificar quais genótipos de *Panicum maximum* são promissores quanto ao valor nutritivo.

3 REFERÊNCIAS

ARAÚJO, S. A. C.; DEMINICIS, B. B.; CAMPOS, P. R. S. S. Melhoramento genético de plantas forrageiras tropicais no Brasil. **Archivos de Zootecnia**. v. 57, n. 1, p. 61-76, mar. 2008.

ASKIN, D. E. Histological and physical affecting digestibility of forages. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, p. 17-25, Jan.-Feb. 1989.

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

BECK, C. B. **An introduction to plant structure and development: plant anatomy for the twenty-first century**. 2. ed. New York: Cambridge University Press, 2010. 441p.

BRITO, C. J. F. A.; DESCHAMPS, Francisco Carlos. Caracterização anatômica em diferentes frações de cultivares de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 30, n. 5, p. 1409-1417, Sept./Oct. 2001.

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

BRITO, C.J.F. A. de; RODELLA, R.A.; DESCHAMPS, F.C. Anatomia quantitativa da folha e do colmo de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.)

Stapf. e *B. humidicola* (Rendle) Schweick. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.33, n.3, p. 519-528, maio/jun. 2004.

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.

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

COSTA, N. L.; GIANLUPPI, V.; MORAES, A. Produtividade de forragem e morfogênese de " *Trachypogon vestitus*" em diferentes idades de rebrota nos cerrados de Roraima. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 12, n. 4, p.935-948, out./dez. 2011.

EUCLIDES, V. P. B. et al. Brazilian scientific progress in pasture research during the first decade of XXI century. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 39, p. 151-168, Jul. 2010. Suplemento especial.

GOMES, R. A. et al. Características anatômicas e morfofisiológicas de lâminas foliares de genótipos de *Panicum maximum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 2, p. 205-211, Feb. 2011.

GONZÁLEZ, A. M. T.; MORTON, C. M. Molecular and morphological phylogenetic analysis of *Brachiaria* and *Urochloa* (Poaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 37, n. 1, p. 36-44, Oct. 2005.

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

JANK, L.; VALLE, C. B.; RESENDE, R. M. S. Breeding tropical forages. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 11, p. 27-34, jun. 2011. Especial.

JANK, L.; VALLE, C. B.; RESENDE, R. M. S. Genética em pastagem. **Revista USP**, São Paulo, n. 64, p. 86-93, dez./fev. 2004-2005.

JERBA, V. F.; MEDEIROS, S. R.; FERNANDES, C. D. **Forrageiras: principais fatores de antiquidade**. Campo Grande: Embrapa Gado de corte, 2004.

JUNG, H. G.; VOGEL, K. P. Influence of lignin on digestibility of forage cell wall material. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 62, n. 6, p. 1703-1712, June 1986.

KARIA, C. T.; DUARTE, J. B.; ARAÚJO, A. C. G. de. Desenvolvimento de cultivares do gênero *Brachiaria* (trin.) Griseb. no Brasil. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2006. 57 p. (Documentos, 163).

LEITÃO FILHO, H. F. Espécies do gênero *Brachiaria* Griseb nativas e exóticas cultivadas no estado de São Paulo. **Boletim Técnico**, Campinas: CATI, 1977. v. 97, 27 p.

MAURI, J.; TECHIO, V.H.; DAVIDE, L.C.; PEREIRA, D.L.; SOUZA SOBRINHO, F.; PEREIRA, F.J. Forage quality in cultivars of *Brachiaria* spp.: association of lignin and fibers with anatomical characteristics. **Australian Journal of Crop Science**. v. 9, n. 12, 2015 (no prelo).

MENDONÇA, S. A. et al. Agronomic and nutritional evaluation of intraspecific crosses in *Brachiaria decumbens*. **Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales**, Cali, v. 1, n. 1, p. 103- 105, Sept. 2013.

MOURA, R. L. et al. Características estruturais, interceptação de luz e massa de forragem em diferentes idades de rebrota do estilosantes Campo Grande. **Revista Científica de Produção Animal**, Areia, v. 16, n. 1, p. 17-24, 2014.

OLIVEIRA, S. G. et al. Effect of tannin levels in sorghum silage and concentrate supplementation on apparent digestibility and methane emission in beef cattle. **Animal Feed Science and Technology**, New York, v. 135, n. 3-4, p. 236-248, June 2007.

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

PACIULLO, D. S. C. et al. Degradação in vitro de tecidos da lâmina foliar e do colmo de gramíneas forrageiras tropicais, em função do estágio de desenvolvimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 31, n. 2, p. 900-907, 2002. Suplemento.

RESENDE, R. M. S. et al. Melhoramento convencional de forrageiras. In: SIMPÓSIO DE PASTAGEM E FORRAGICULTURA DO CAMPO DAS

VERTENTES, 2., 2015, São João del Rei. **Anais...** São João del Rei: UFSJ, 2015. p. 114-130.

SANTOS, F. C. et al. Adaptive leaf anatomical characteristics of *Brachiaria ruziziensis* genotypes (Poaceae) in different environments-[doi: 10.4025/actasciobiolsci.v35i4.18265](https://doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v35i4.18265). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 35, n. 4, p. 579-584, Oct.-Dec. 2013.

SEIFFERT, Nelson Frederico. **Gramíneas forrageiras do gênero *Brachiaria***. Campo Grande: EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte, 1980. 83p. (Circular Técnico).

SILVA, S. C.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; EUCLIDES, V. B. P. **Pastagens: conceitos básicos, produção e manejo**. São Carlos: Suprema, 2008. 115 p.

SOARES FILHO, C. V. *Brachiaria*: espécies e variedades recomendadas para diferentes condições. **Boletim técnico**, Campinas, 1996. 26p. (CATI. Boletim Técnico, 226).

SOUZA SOBRINHO, F. et al. Avaliação agronômica de híbridos interespecíficos entre capim-elefante e milheto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n. 9, p.873-880, set. 2005.

SOUZA SOBRINHO F. et al. Melhoramento de gramíneas forrageiras na Embrapa Gado de Leite. In: EVANGELISTA A. R.; SOUZA, F. F. (Ed.). *Forragicultura e pastagem*. Lavras: UFLA, 2009.

VALLE, C. B. ***Brachiaria* e/ou *Urochloa***: dando nomes as plantas. Disponível em: <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=22378&secao=Agrotemas>>. Acesso em: 22 ago. 2015.

VALLE C. B. et al. Melhoramento genético de *Brachiaria*. In: RESENDE, R. M. S.; VALLE, C. B. do; JANK, L. (Ed.). **Melhoramento de Forrageiras Tropicais**. Campo Grande: Embrapa, 2008. p. 13-53.

VALLE, C. B.; JANK, L.; RESENDE, R. M. S. O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. **Ceres**, Viçosa, MG, v. 56, n. 4, p. 460-472, jul./ago. 2009.

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1. O TEMPO DE REBROTA MODIFICA A ANATOMIA FOLIAR DE *BRACHIARIA* SPP. COM POSSÍVEIS EFEITOS NA SUA QUALIDADE COMO FORRAGEM

RESUMO

Na maturidade os tecidos das forrageiras apresentam declínio no seu valor nutricional devido ao aumento da lignificação na parede celular afetando a digestibilidade nos ruminantes. Nesse sentido, com o presente trabalho objetivou-se verificar como as características anatômicas das folhas de espécies de *Brachiaria* modificam ao longo do tempo de rebrota. Foi avaliado o desenvolvimento e a estrutura de folhas de genótipos de *Brachiaria brizantha* (Hochst.) Stapf. (cv Marandu), *Brachiaria decumbens* Stapf. Prain. (cv. Basilisk), *Brachiaria ruziziensis* (R. Germ & Evrad) (cv. Kennedy) e três clones (1, 95 e 97) de *Brachiaria ruziziensis* para verificar as proporções de tecidos na região internervural e nervura mediana em três idades da forragem (8, 15, 29 dias). Com o tempo, aos 8 dias de rebrota os tecidos já apresentavam diferenciação, mas não apresentavam total expansão como observado aos 15 dias, esse processo se prolongou até os 29 dias de rebrota, entretanto,, nessa data ocorreu maior deposição de tecidos lignificados. Com o tempo, aos 8 dias de rebrota os tecidos já apresentavam diferenciação, mas não apresentavam total expansão como observado aos 15 dias, esse processo se prolongou até os 29 dias de rebrota, entretanto, nessa data ocorreu maior deposição de tecidos lignificados. Na maior parte dos genótipos avaliados, foi observado menor quantidade de fibras aos 15 dias em comparação aos 29 dias de rebrota. Além disso, aos 15 dias pode-se observar maior quantidade de parênquima em relação aos 8 dias de rebrota. Conclui-se que aos 8 dias a folha ainda não está

completamente diferenciada e que a idade de rebrota modifica a porcentagem de tecidos em *Brachiaria* sp ocorrendo aumento das fibras e feixes vasculares aos 29 dias de rebrota.

Palavras chave – Digestibilidade. Lignina. *Brachiaria brizantha* (Hochst.) Stapf. *Brachiaria decumbens* Stapf. Prain. *Brachiaria ruziziensis*.

ABSTRACT

At maturity, the tissues of forage plants present increased lignification in the cell wall affecting the digestibility in ruminant animals. The present work was designed to verify how the anatomical characteristics of the leaves of species of *Brachiaria* modify over the regrowth time. Both the development and the structure of the leaves of genotypes of *Brachiaria brizantha* (Hochst.) Stapf. (cv Marandu), *Brachiaria decumbens* Stapf. Prain. (cv. Basilisk), *Brachiaria ruziziensis* (R. Germ & Evrad) (cv. Kennedy) and three clones of *Brachiaria ruziziensis* were evaluated to verify the proportions of tissues in the interveinal region and midrib at three ages of the forage (8, 15, 29 days). Over time, at eight days of regrowth, the tissues were already presenting differentiation, but they were not presenting total expansion as observed at 15 days, that process extended till the 29 days of regrowth, however, at that data, increased deposition of lignified tissues took place. The regrowth age modifies the percentage of tissues in *Brachiaria* sp, that both the fibers and vascular bundles increase at 29 days and at 8 days, the leaf is not fully differentiated yet.

Key words: Digestibility. Lignin. *Brachiaria brizantha* (Hochst.) Stapf. *Brachiaria decumbens* Stapf. Prain.. *Brachiaria ruziziensis*.

1 INTRODUÇÃO

A qualidade de uma forragem é determinada a partir do seu grau de digestibilidade pelos ruminantes (JERBA; MEDEIROS; FERNANDES, 2004). Os microrganismos que habitam o rúmen desses animais possuem a capacidade de digerir a celulose, mas não a lignina (CLIPES et al., 2010). Portanto, a deposição de lignina na parede celular é um fator que reduz a digestibilidade. Essa deposição de lignina ocorre simultaneamente à maturidade fisiológica (PACIULLO, 2002). Além da lignificação da folha, nessa fase, ocorre também aumento na proporção dos tecidos lignificados (BRITO et al., 1999). Os tecidos lignificados e não lignificados são digeridos ou não, pelos ruminantes, de forma diferenciada, conforme a composição química, estrutura, compactação das células e espessamento da parede celular (BRITO et al., 1999; PACIULLO, 2002). Geralmente, análises químicas de caules e folhas são realizadas para identificar e quantificar a presença de componentes químicos que interferem na digestibilidade das forragens (JERBA; MEDEIROS; FERNANDES, 2004).

A anatomia vegetal quantitativa tem se tornado uma ferramenta significativa para a avaliação da qualidade da forragem, levando em consideração a digestão diferenciada de cada tecido de acordo com sua lignificação (BRITO et al., 1999; PACIULLO, 2002). Existem muitos trabalhos que utilizaram essa ferramenta como contribuição complementar para avaliar o potencial de digestibilidade dos tecidos foliares, como o trabalho realizado por Brito et al. (2004), que avaliaram, por meio da anatomia vegetal quantitativa áreas de tecidos de folhas localizados em diferentes níveis de inserção de plantas de *Brachiaria brizantha* e *B. humidicula*, e verificaram maior área de tecido vascular lignificado, de baixo potencial de digestibilidade, em *B. brizantha*. Bauer et al. (2008) avaliaram a influência das características anatômicas sobre o valor nutritivo de capim-gordura (*Melinis minutiflora* Pal. De Beauv), capim-

braquiária (*Brachiaria decumbens* Staph.), capim-sapé (*Imperata brasiliensis* Trin.) e capim-jaraguá (*Hyparrhenia rufa* (Nees) Staph.) e concluíram que os baixos coeficientes de digestibilidade foram relacionados às elevadas proporções de xilema e esclerênquima. Basso et al. (2014) utilizaram a anatomia vegetal quantitativa, para avaliar o efeito dos níveis de adubação nitrogenada em proporção de tecidos foliares de *Panicum maximum* Jacq. cv. IPR-86 Milênio, e verificaram que esta adubação influencia na melhoria de tecidos considerados de alta digestibilidade.

Além de permitir a avaliação estrutural de diferentes tecidos na forragem, a anatomia vegetal, também permite comparação entre espécies, cultivares e o acompanhamento da maturidade da forragem (ALVES DE BRITO; RODELLA; DESCHAMPS, 2004). Na maturidade desses vegetais, ocorre o declínio no seu valor nutritivo devido ao aumento da idade, resultando em uma crescente lignificação na parede das células, além do aumento na proporção dos tecidos lignificados, refletindo em maior efeito negativo na digestão dos tecidos (BRITO et al., 1999; PACIULLO et al., 2002; PACIULLO, 2002; MAURI et al., 2015). Na literatura ainda não existem trabalhos que utilizam a anatomia vegetal quantitativa para avaliar a modificação dos tecidos foliares a idade da forragem em espécies de *Brachiaria*. Esse tipo de avaliação permite a seleção de forma indireta de folhas que podem gerar tecidos com maior potencial de digestibilidade, além de ser um método que de baixo custo que apresenta resultados em curto prazo. Com isso, com o presente trabalho objetivou-se verificar como as características anatômicas das folhas de espécies de *Brachiaria* modificam ao longo do tempo de rebrota.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

Foram avaliados os genótipos: *Brachiaria brizantha* (Hochst.) Stapf. (cv. Marandu), *Brachiaria decumbens* Stapf. Prain. (cv. Basilisk), *Brachiaria ruziziensis* R. Germ & Evrad (cv. Kennedy) e três clones (1, 95 e 97) de *Brachiaria ruziziensis*, que estão em processo de seleção no programa de melhoramento da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora - Minas Gerais, Brasil. Esses genótipos foram cultivados no Campo Experimental da Embrapa Gado de Leite, localizado no município de Valença (Rio de Janeiro, Brasil). O solo foi classificado como Gleissolo Háplico ((EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2013) e a adubação foi realizada com base nos resultados da análise de solo, de acordo com (RIBEIRO; GUIMARÃES; ALVAREZ, 1999). A correção do solo foi realizada com calcário, e a adubação de plantio consistiu da aplicação de 300 kg ha⁻¹ da fórmula 08-28-16 de NPK + Zn. A adubação de cobertura foi realizada posteriormente empregando 50 kg N ha⁻¹. A irrigação foi feita sempre que a umidade do solo atingia 50% da capacidade de campo. O volume aplicado era o suficiente para restaurar 100% da capacidade de campo de acordo com análises prévias na área experimental. O corte de uniformização das parcelas foi feito com 60 dias e as folhas foram coletadas caracterizando diferentes idades de rebrota, nos períodos de 08, 15 e 29 dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos (idade de rebrota) e nove repetições.

2.2 Análise anatômica

Folhas inteiras foram coletadas e fixadas em F.A.A_{70%} (formaldeído: ácido acético glacial: etanol 70% na proporção de 0,5:0,5:9 v v⁻¹) por 72 horas seguindo (JOHANSEN, 1940). Após a fixação, as folhas foram conservadas em etanol 70%, em temperatura ambiente até a data das análises.

As seções transversais das folhas foram realizadas à mão livre, com o auxílio de uma lâmina de aço no terço inferior da lâmina foliar, logo após o final da bainha. Foram avaliadas as regiões da nervura mediana e internervural da lâmina foliar. As análises foram realizadas no terço inferior da lâmina, pois o sistema vascular das folhas possui desenvolvimento acrópeto sendo que as partes mais basais das folhas possuem uma maturação mais rápida do esclerênquima presente nos feixes vasculares (BECK, 2010).

Os cortes foram clarificados em solução de hipoclorito de sódio 50%, lavados em água destilada duas vezes por 10 minutos. As seções foram coradas com solução de safranina e azul de astra [safranina 0,01% ($m v^{-1}$) e azul de astra 0,99% ($m v^{-1}$)] (KRAUS; ARDUIN, 1997) e montadas em lâminas semipermanentes em glicerol 50% ($v v^{-1}$). Foram capturadas imagens das lâminas em microscópio Leica DMLS (Leica Microsystems Wetzlar GmbH, Wetzlar, Germany) acoplado à câmera digital Nikon SIGHT DS- S11.

Foram confeccionadas nove laminas por tratamento e avaliados quatro campos por lamina.

As imagens foram analisadas, tanto para a região internervural quanto para a nervura mediana, com o *software Image J* obtendo-se a área dos seguintes tecidos, para o cálculo das suas proporções: epiderme da face adaxial; epiderme da face abaxial; parênquima clorofiliano; média da área do floema em um único feixe vascular; somatório das áreas das bainhas dos feixes vasculares; somatório das áreas dos feixes vasculares; média da área do xilema em um único feixe vascular; média da área das fibras em um feixe vascular e área total da folha na imagem. Para a obtenção das proporções considerou-se a área de cada tecido mensurado sobre a área total da folha, multiplicado por 100.

2.3 Análise estatística

Os dados foram testados quanto a sua normalidade pelo teste Shapiro-Wilk. Em seguida esses dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott para $p \leq 0,05$. A análise estatística foi realizada com o auxílio do software estatístico Sisvar 5.0 (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS

3.1 Região internervural

A proporção da epiderme da face adaxial não apresentou diferenças em função da data de rebrota para *B. ruziziensis*, Clone 97 e Clone 95. Contudo, foi maior aos 15 dias em *B. brizantha* e mostrou valores semelhantes aos 8 e 15 dias no Clone 1 e aos 15 e 29 dias em *B. decumbens* (Figura 1A). A proporção da epiderme da face abaxial não apresentou diferenças em função da data de rebrota para *B. decumbens*, *B. ruziziensis* e Clone 1. Entretanto, foi maior aos 15 dias em *B. brizantha* e Clone 97 e valores equivalentes foram encontrados aos 15 e 29 dias para Clone 95 (Figura 1-B).

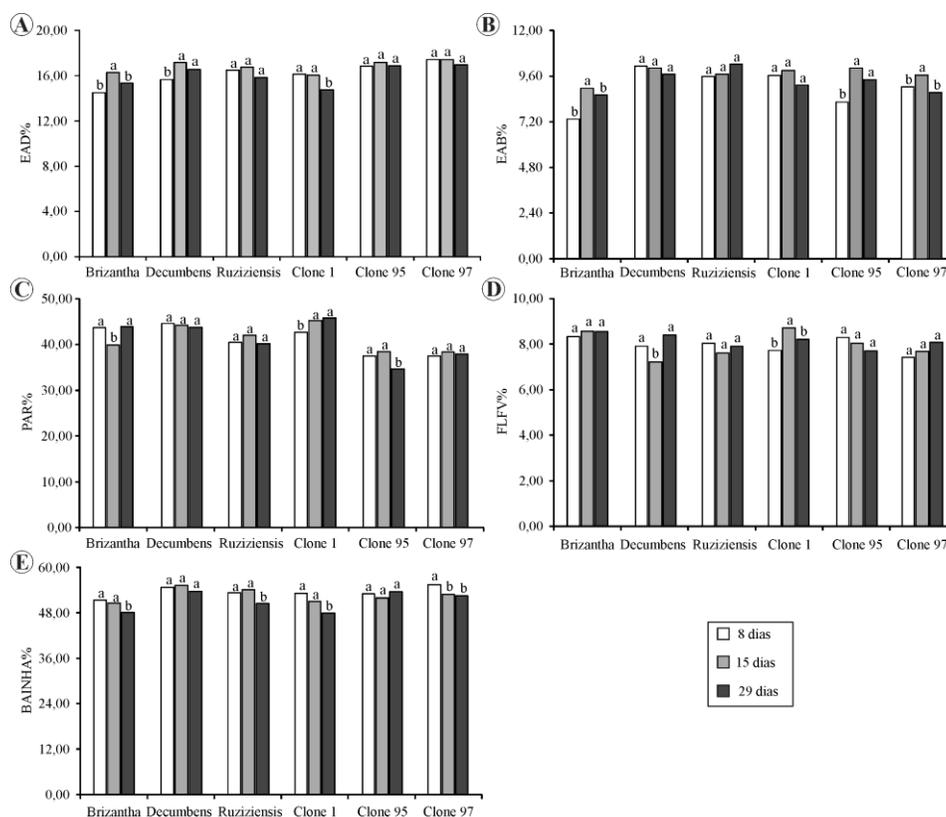


Figura 1 Modificações nos tecidos na região internervural da lâmina foliar de *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. ruzizensis*, Clone 1, Clone 95 e Clone 97 em diferentes datas de rebrota. Médias seguidas pela mesma letra dentro de um mesmo genótipo não são significativamente diferentes pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância dentro dos genótipos. A- proporção da epiderme da face adaxial (EAD%); B- proporção da epiderme da face abaxial (EAB%); C- proporção do parênquima clorofiliano (PAR%); D- proporção da média da área do floema em um único feixe vascular (FLFV%); E- proporção das áreas da bainha nos feixes vasculares (BAINHA%). UFLA, Lavras, MG, 2015.

A proporção da epiderme da face abaxial não apresentou diferenças em função da data de rebrota para *B. decumbens*, *B. ruzizensis* e Clone 1. Entretanto, foi maior aos 15 dias em *B. brizantha* e Clone 97 e valores equivalentes foram encontrados aos 15 e 29 dias para Clone 95 (Figura 1-B).

A proporção de parênquima clorofiliano não mostrou diferenças em

função da data de rebrota para *B. Decumbens*, *B. ruzizensis* e Clone 97. No entanto, apresentou-se maior aos 15 dias para Clone 95 e valores similares aos 15 e 29 dias para o Clone 1. Em contrapartida, *B. brizantha* mostrou maiores valores aos 8 e 29 dias (Figura 1-C).

A proporção de floema no feixe vascular mostrou valores não significativos em função da data de rebrota em *B. brizantha*, *B. ruzizensis*, Clone 95 e Clone 97. Entretanto, foi maior aos 15 dias no Clone 1 e valores menores foram encontrados aos 15 dias em *B. decumbens* (Figura 1-D). A proporção de células da bainha mostrou-se não significativa em função da data de rebrota para *B. decumbens* e Clone 95. Contudo, foi maior aos 8 dias para Clone 97 e valores equivalentes aos 8 e 15 dias foram encontrados também aos 8 dias no Clone 1 e *B. brizantha* e *B. ruzizensis* (Figura 1-E).

Com relação aos tecidos vasculares, a proporção do feixe vascular total não mostrou valores significativos em função da data de rebrota para *B. decumbens*, *B. ruzizensis* e Clone 97. Contudo, apresentou menores valores aos 15 dias no Clone 1 e Clone 95 e aos 29 dias em *B. brizantha* (Figura 2- A).

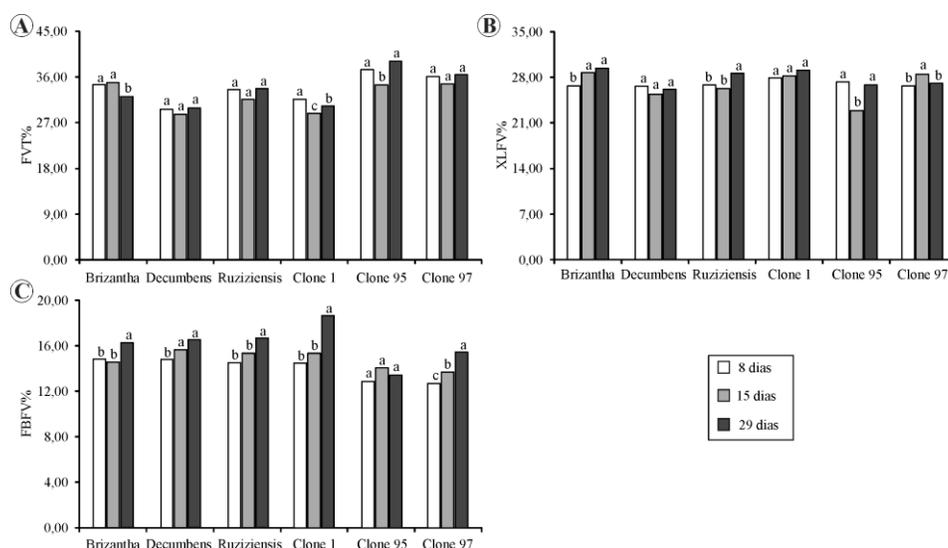


Figura 2 Estrutura dos feixes vasculares na região internervural de *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. ruziziensis*, Clone 1, Clone 95 e Clone 97, nas diferentes datas de rebrotas. Médias seguidas pela mesma letra nas barras não são significativamente diferentes pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância dentro dos genótipos. A- Proporção do somatório das áreas dos feixes vasculares (FVT%); B- proporção da média da área do xilema em um único feixe vascular (XLFV%); C- proporção da média da área das fibras em um feixe vascular (FBFV%). UFLA, Lavras, MG, 2015.

A proporção de xilema no feixe vascular não mostrou diferenças em função da data de rebrota para *B. decumbens* e Clone1. Contudo, foi menor aos 8 dias em *B. brizantha*. Maiores valores foram encontrados aos 15 dias em Clone 97, em contrapartida, na mesma data de 15 dias, *B. ruziziensis* e Clone 95 apresentaram menores valores (Figura 2- B). Com relação à proporção de fibras no feixe vascular não foi significativa em função da data de rebrota no Clone 95. Entretanto, foi maior aos 29 dias em *B. brizantha*, *B. ruziziensis*, Clone 1 e Clone 97 e menor aos 8 dias em *B. decumbens* (Figura 2- C).

3.2 Nervura mediana

A proporção da epiderme da face adaxial da nervura mediana, não foi significativa em função da data de rebrota para *B. brizantha*. Entretanto, foi maior aos 15 dias em *B. decumbens*, Clone 1, Clone 95, e Clone 97 contudo, foi menor aos 8 dias em *B. ruziziensis* (Figura 3 - A).

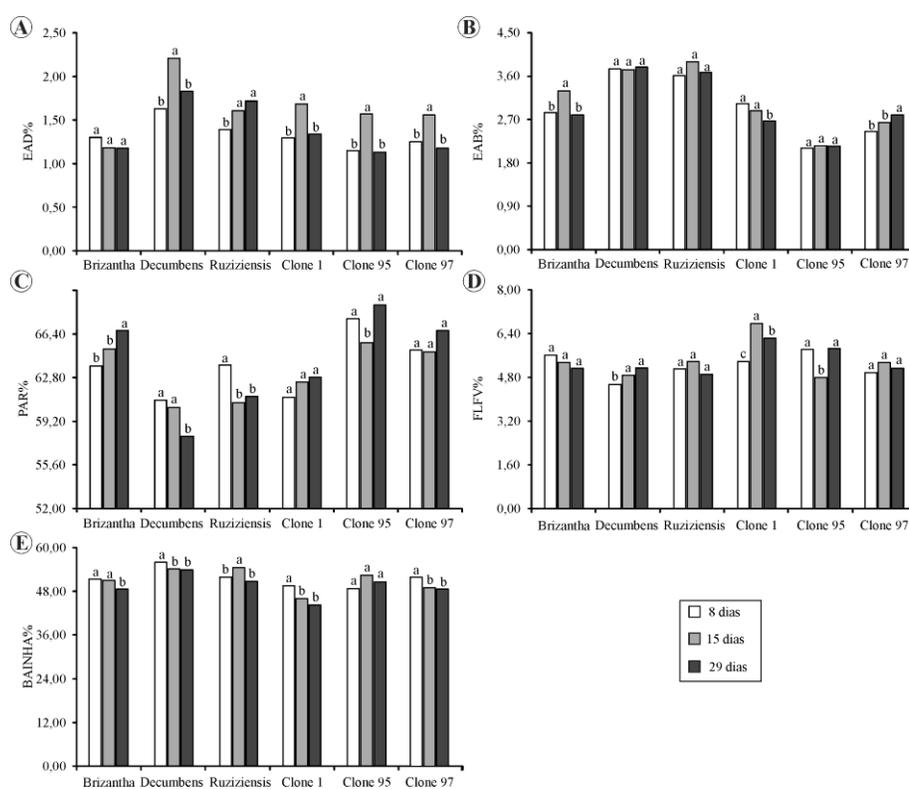


Figura 3 Proporção de tecidos da nervura mediana de *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. ruziziensis*, Clone 1, Clone 95 e Clone 97, nas diferentes datas de rebrotas. Médias seguidas pela mesma letra nas barras não são significativamente diferentes pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância dentro dos genótipos. A- Proporção da epiderme da face adaxial (EAD%); B- proporção da epiderme da face abaxial (EAB%); C- proporção do parênquima clorofiliano (PAR%); D- proporção da média da área do floema em um único feixe vascular (FLFV%); E- proporção do somatório das áreas das bainhas nos feixes vasculares (BAINHA%) UFLA, Lavras, MG, 2015.

Quanto à proporção da epiderme da face abaxial, não houve diferença significativa em função da data de rebrota para *B. decumbens*, *B. ruziziensis* e Clone 95. No entanto, foi maior aos 15 dias em *B. brizantha* e menor aos 29 dias para o Clone 1 e maior para essa data para o Clone 97 (Figura 3 - B).

A proporção de parênquima fundamental não apresentou modificações significativas em função da data de rebrota para Clone 1 e Clone 97. Todavia, foi maior aos 29 dias em *B. brizantha* e menor aos 15 dias em *B. ruziziensis* (Figura 3 - C).

A proporção de floema no feixe vascular não mostrou resultados significativos em função da data de rebrota para *B. brizantha*, *B. ruziziensis* e Clone 97. Esta variável foi maior aos 15 dias no Clone 1 e menor em *B. decumbens* e Clone 95 (Figura 3 - D).

A proporção de células da bainha, não apresentou diferenças significativas em função da data de rebrota no Clone 95. No entanto, foi maior aos 15 dias em *B. ruziziensis*, e aos 8 dias para *B. decumbens*. Contudo, o Clone 1 e Clone 97 apresentaram maiores valores aos 8 dias (Figura 3 - E).

A proporção do total de feixes vasculares foi maior aos 8 dias em *B. decumbens*, *B. brizantha* e Clone 1. Menores médias foram observadas aos 29 dias para o Clone 97 e Clone 95 e aos 8 dias em *B. ruziziensis* (Figura 4 - A).

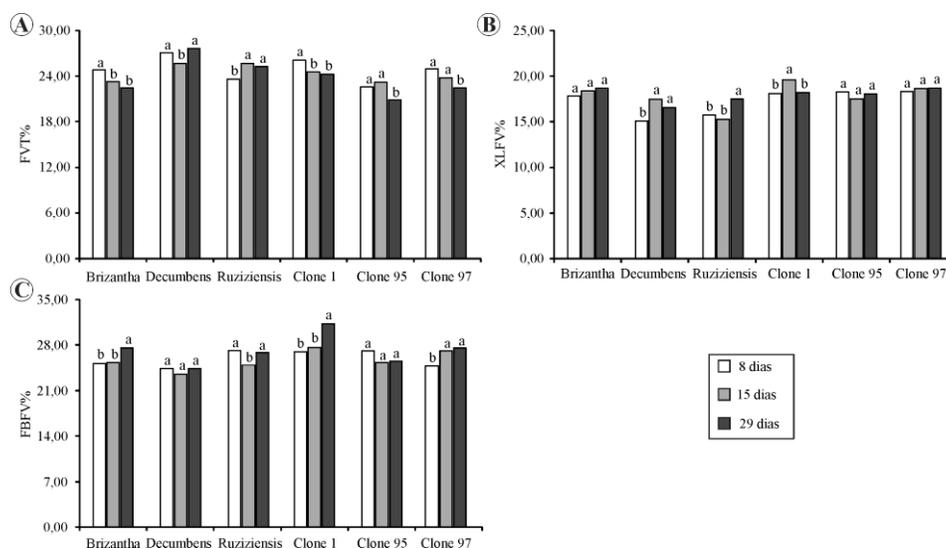


Figura 4 Estrutura dos feixes vasculares da nervura mediana de *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. ruziziensis*, Clone 1, Clone 95 e Clone 97, nas diferentes datas de rebrotas. Médias seguidas pela mesma letra nas barras não são significativamente diferentes pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância dentro dos genótipos. A- Proporção do somatório das áreas dos feixes vasculares (FVT%); B- proporção da média da área do xilema em um único feixe vascular (XLFV%); C- proporção da média da área das fibras em um feixe vascular (FBFV%). UFLA, Lavras, MG, 2015.

A proporção de xilema no feixe vascular não foi modificada de forma significativa em função da data de rebrota, em *B. brizantha*, Clone 97 e Clone 95. Entretanto, foi menor aos 8 dias em *B. decumbens* e maior aos 8 dias em *B. ruziziensis* e aos 15 dias no Clone 1 (Figura 4 - B). Quanto à proporção de fibras no feixe vascular não apresentou diferenças em função da data de rebrota para *B. decumbens* e Clone 95. Todavia, foi menor aos 8 dias no Clone 97 e aos 15 dias em *B. ruziziensis* e maiores aos 29 dias no Clone 1 (Figura 4 - C).

3.3 Desenvolvimento foliar

Os seis genótipos do gênero *Brachiaria*, dentro das três datas de rebrota (8, 15 e 29 dias) apresentaram diferenças anatômicas quanto ao desenvolvimento

dos tecidos ao longo do tempo.

A região internervural nas datas estudadas possuem camada unisseriada na face adaxial e abaxial em todas as datas estudadas (Figura 5).

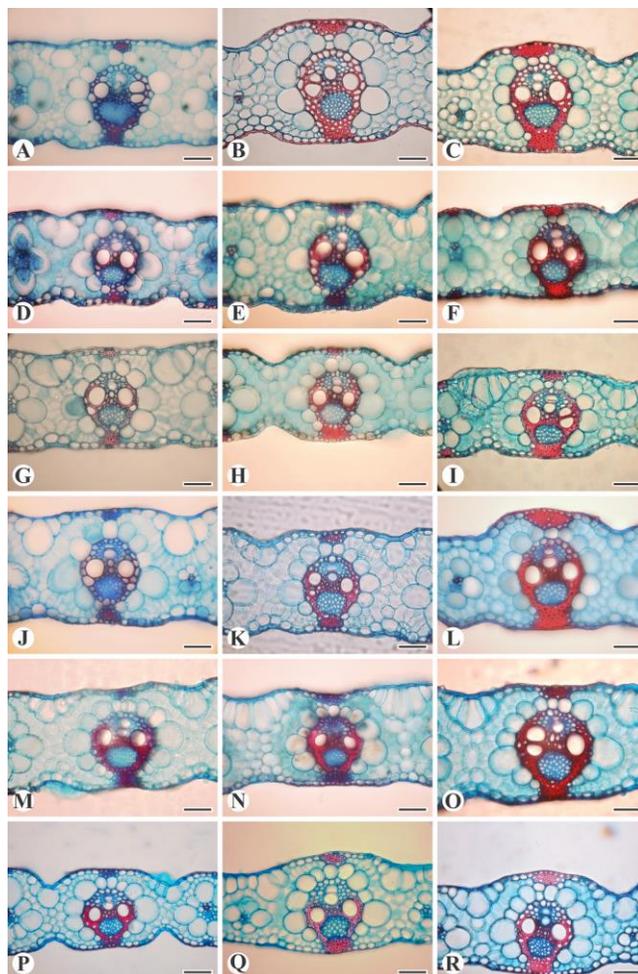


Figura 5 Estrutura anatômica em secção transversal, da região internervural, indicando as idades de rebrota nas colunas (8, 15 e 29), e nas linhas os genótipos de *B. brizantha* (A, B e C), *B. decumbens* (D, E e F), *B. ruziziensis* (G, H e I), Clone 1 (J, K e L), Clone 95 (M, N e O) e Clone 97 (P, Q e R). Barra= 50 μ m. UFLA, Lavras, MG, 2015.

A partir dos 15 dias, foi observado uma melhor diferenciação das células do parênquima clorofiliano e expansão das células da bainha do feixe definindo a estrutura Kranz com maior clareza (Figura 5 - B, E, H, K, N e Q). Ocorre um aumento da espessura foliar dos 8 para os 15 dias produzindo um maior tamanho total da região amostrada. Essa espessura foliar não se modifica claramente entre os 15 e 29 dias. Os feixes vasculares são do tipo colateral fechado e mostraram aumento de tamanho com o decorrer do tempo de rebrota, mostrando maior tamanho aos 29 dias (Figura 5). A expansão dos feixes vasculares é acompanhada pelo aumento intenso da quantidade de fibras sendo claramente mais desenvolvidas e formando extensão de bainha dos feixes aos 29 dias (Figura 5).

Assim como a região internervural, a região da nervura mediana apresentou epiderme unisseriada tanto na face adaxial quanto na face abaxial e mostrou pouca diferença estrutural em função das datas de rebrota, destacando-se a maior definição da cutícula (Figura 6). Na face adaxial, internamente à epiderme ocorre uma região contendo fibras de esclerênquima em toda a nervura mediana, que aumentou com as datas de rebrota, apresentando-se maior aos 29 dias (Figura 6). Na região central da nervura mediana, encontra-se uma grande região composta de parênquima fundamental já formada aos 8 dias e com poucas modificações nas datas avaliadas, observa-se contudo, uma expansão de toda a nervura (Figura 6).

Os feixes localizados na face abaxial das folhas apresentaram diferentes tamanhos, sendo que os de maior calibre apresentaram extensões da bainha do feixe constituídas de fibras de esclerênquima e quanto maior a data de rebrota, maior foi o incremento dessas fibras e esclerênquima, sendo claramente maiores aos 29 dias (Figura 6).

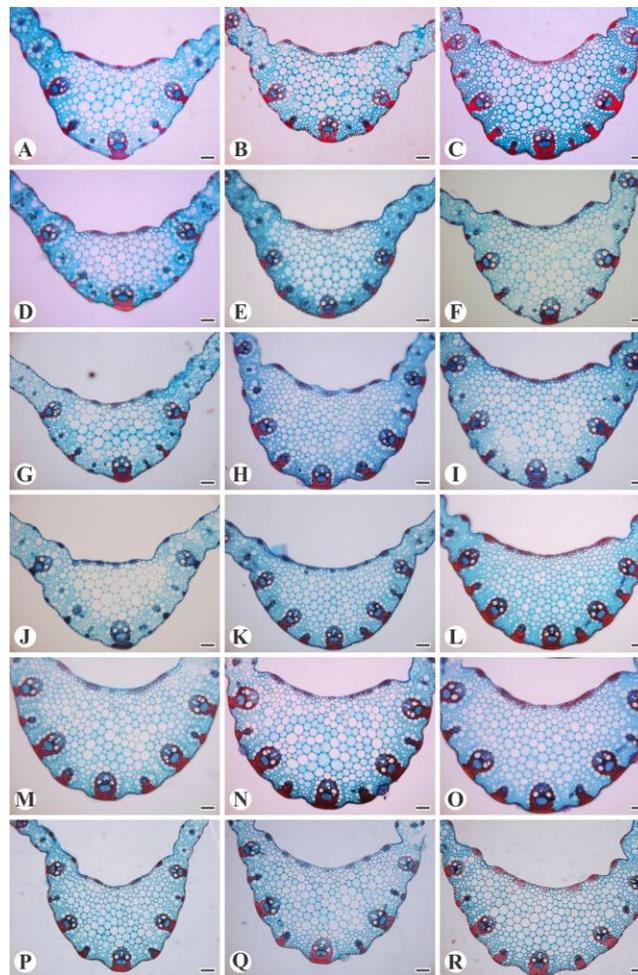


Figura 6 Estrutura anatômica em secção transversal, da região da nervura mediana, indicando as idades de rebrota nas colunas (8, 15 e 29), e nas linhas os genótipos de *B. brizantha* (A, B e C), *B. decumbens* (D, E e F), *B. ruziziensis* (G, H e I), Clone 1 (J, K e L), Clone 95 (M, N e O) e Clone 97 (P, Q e R). Barra= 100 μ m. UFLA, Lavras, MG, 2015.

4 DISCUSSÃO

O aumento da data de rebrota mostra visivelmente a expansão e modificação de alguns tecidos como o esclerênquima e o xilema. A expansão

celular nos tecidos é seguida pela diferenciação celular, processo que ocorre no transcorrer da maturação (SINHA, 1999). Durante o desenvolvimento foliar até a maturação ocorrem divisão e diferenciação celulares nas diferentes regiões da folha, processo que desempenha um papel importante na morfogênese do órgão (BECK, 2010). Observa-se que os tecidos nas folhas de *Brachiaria* estudadas já estavam diferenciados aos 8 dias após a rebrota, portanto, não eram meristemáticos e isso limitou maior quantidade de divisões celulares. Contudo, as folhas aumentaram em tamanho, decorrente da expansão celular e aumento na biomassa, além da diferenciação do esclerênquima e tecidos vasculares.

Além disso, aos 8 dias as folhas não estão completamente expandidas. Aos 15 dias os tecidos encontram-se visualmente com parênquima organizado mostrando que possui maior capacidade fotossintética em comparação aos 8 dias de rebrota. Folhas completamente expandidas fazem fotossíntese com intensidade máxima e os assimilados por elas produzidos servem para sua manutenção e necessidades do meristema apical, sistema radicular e folhas em expansão (SILVA; NASCIMENTO JÚNIOR; EUCLIDES, 2008). As folhas em expansão possuem suas lâminas parcialmente expostas e lígula não visível, todos os assimilados produzidos são para seu próprio desenvolvimento (SILVA; NASCIMENTO JÚNIOR; EUCLIDES, 2008). Após a data de 15 dias, ocorreu maior expansão dos feixes vasculares, fator que interfere na qualidade da forragem quanto à digestibilidade, pois é comprovado que há aumento de lignina na fibras com o decorrer da idade da planta (LEV-YADUN, 2010; KING et al., 2013).

Na literatura é comprovado que o crescimento da forragem é acompanhado pelo espessamento e incremento de lignina na parede celular, comprometendo a qualidade da forragem em razão do aumento dos tecidos lignificados (BRITO et al., 1999; PACIULLO et al., 2002; JERBA; MEDEIROS; FERNANDES, 2004; BAUER et al., 2008). Dessa forma, o

conhecimento da data ideal de rebrota da forragem é importante para evitar o acúmulo desses tecidos lignificados. Esses tecidos possuem compostos químicos que prejudicam na palatabilidade, degradação e a digestibilidade das forragens pelos ruminantes (JERBA; MEDEIROS; FERNANDES, 2004). Além disso, o aumento da idade é um fator que compromete a qualidade nutricional da forragem (COSTA et al., 2007). O corte da forrageira antes do processo de lignificação proporcionará melhor digestibilidade ao ruminante, contudo a forragem pode apresentar baixa quantidade de biomassa em comparação com folhas que apresentarem maior data de rebrota, fato observado aos 8 dias de rebrota, que mostrou os tecidos organizados, entretanto, ainda em expansão e diferenciação.

Nesse contexto, a idade mais apropriada para o uso de uma forrageira é aquela que se obtém a melhor combinação da produtividade e qualidade da forragem além da restauração da área foliar após a colheita por corte ou pastejo (MOURA et al., 2014). Muitos autores trabalhando com diferentes forragens, realizaram estudos com o objetivo de verificar a ideal data de rebrota para melhor produção e valor nutricional, esse tempo varia com as espécies e fatores genéticos. Lucena Costa et al. (2014) trabalhando com a espécie *Axonopus aureus*, concluiu que uma maior idade de rebrota afeta o rendimento da forragem, as taxas de crescimento e as características morfogênicas e estruturais. Moura et al. (2014), trabalhando com forragem do gênero *Stylosanthes* detectaram, nas condições estudadas, que 30 a 35 dias foram as melhores datas de rebrota. Costa et al. (2011), verificaram que o período de utilização mais adequado para a forrageira *Trachypogon vestitus* situa-se entre 49 e 56 dias de rebrota. Entretanto, esses trabalhos visaram somente a produtividade da forragem, pois quanto maior a quantidade de massa seca produzida, maior da produção.

Encontram-se estudos com o gênero *Brachiaria* buscando a ideal data de rebrota da forragem, contudo, apresentando resultados parciais e sem a abordagem anatômica. Costa et al. (2007) trabalhando com genótipos e cultivares de *Brachiaria brizantha*, constataram que as melhores datas de rebrota visando a produção da forragem e vigor da rebrota foram de 28 a 42 dias para cultivar Marandu e o genótipo BRA-004308 e entre 28 a 35 dias para o genótipo BRA-003395. Deminicis et al. (2010) estudando a espécie *Brachiaria humidicola*, em diferentes idades de rebrota submetido a doses de nutrientes, obtiveram aos 56 dias de rebrota maiores rendimentos de forragem. Entretanto, nesses trabalhos foram apresentaram resultados referentes à produção de biomassa da forragem, que apresenta maior incremento de tecidos lignificados com o aumento da idade da planta, desconsiderando as avaliações estruturais dos tecidos, pois o aumento da idade pode interferir na digestibilidade dos tecidos prejudicando a qualidade da forragem.

Vale ressaltar que cada tecido apresenta degradação diferenciada dentro do sistema digestivo do ruminante. Destaca-se que os tecidos que apresentam parede celular lignificada apresentam baixa digestibilidade. Isso se deve ao fato de que os microrganismos que auxiliam na digestão não possuem a capacidade de digerir a lignina (CLIPES, et al., 2010). Segundo Brito et al. (1999) o potencial de degradação dos tecidos da forragem apresenta a seguinte ordem decrescente de degradação no organismo do ruminante: parênquima > floema > epiderme > bainha parenquimática > xilema e esclerênquima. Seguindo essas considerações, no presente trabalho foram apresentadas maiores proporções de tecidos de alta digestibilidade principalmente de parênquima, e menores proporções de tecidos de baixa digestibilidade como o xilema e fibras, na data de 15 dias de rebrota. Entretanto, baseando somente na digestibilidade a data de 8 dias de rebrota poderia ser indicada, por apresentar todos os tecidos organizados e pela baixa proporção de tecidos de baixa digestibilidade, mas deve-se

considerar que os tecidos apresentam aumento das proporções com o tempo proporcionando aumento da biomassa, com isso, a data que apresente aumento de biomassa com maior proporção de tecidos de alta digestibilidade e menor proporção de tecidos de baixa digestibilidade se sobressairá em relação as demais datas. Nesse sentido, analisando o conjunto de características anatômicas avaliadas, a data de 15 dias seria a mais adequada em relação aos 8 dias.

Verificou-se ainda, que aos 29 dias, encontraram-se altos valores de tecidos com baixa digestibilidade, consolidando o que a literatura assegura, em relação ao aumento da idade de rebrota, que diminui a qualidade da forragem, por proporcionar o aumento da lignificação das paredes celulares (DEMINICIUS et al., 2010). Vale lembrar que a presença de elevadas proporções de xilema e esclerênquima está ligada aos baixos coeficientes de digestibilidade das forragens, (BAUER et al., 2008). Nesse sentido, 15 dias de rebrota também se sobressaiu em relação aos 29 dias, por apresentar baixos índices de tecidos lignificados e conseqüentemente apresenta tecidos que podem gerar melhor digestibilidade em relação a maior data estudada.

Considerando as datas de rebrota do gênero *Brachiaria* da literatura, juntamente com os dados analisados no presente trabalho, seria interessante reduzir a data de rebrota mais próximo de 20 dias, assim haveria maior aproveitamento dos tecidos de fácil digestão pelos ruminantes, e permitiria maior produção de biomassa da folha.

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que aos 8 dias a folha ainda não está completamente diferenciada, e que a idade de rebrota modifica a porcentagem de tecidos em *Brachiaria* sp ocorrendo aumento das fibras e feixes vasculares 29 dias de rebrota.

5 REFERÊNCIAS

BRITO, C.J.F. A. de; RODELLA, R.A.; DESCHAMPS, F.C. Anatomia quantitativa da folha e do colmo de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf. e *B.humidicola* (Rendle) Schweick. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.33, n.3, p. 519-528, maio/jun. 2004.

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

BASSO, K. C. et al. Influence of nitrogen levels on leaf anatomy and Nutritive value of millennium grass. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 792-802, May/June 2014.

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

BECK, C.B. **An Introduction to plant structure and development: plant anatomy for the twenty-first century**. 2. ed. New York: Cambridge University Press, 2010. 441p.

CLIPES, R. C. et al. Predição da fração indegradável da fibra em detergente neutro em forragens tropicais a partir da concentração de lignina. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 11, n. 4, p. 999-1011, out./dez. 2010.

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

COSTA, N. L.; GIANLUPPI, V.; MORAES, A. Morfogênese da rebrota de *Axonopus aureus*, durante o período seco, nos cerrados de Roraima. **Revista Científica de Produção Animal**, Areia, v. 16, n. 1, p. 1-9, 2014.

COSTA, N. L.; GIANLUPPI, V.; MORAES, A. Produtividade de forragem e morfogênese de " *Trachypogon vestitus*" em diferentes idades de rebrota nos cerrados de Roraima. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 12, n. 4, p.935-948, out./dez. 2011.

DEMNICIS, B. B. et al. *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick in different cutting ages under nitrogen and potassium fertilization. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 5, p. 1116-1123, Sept./Oct. 2010.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Brasília, 2013. 353p.

FERREIRA, D. F. Sisvar: um sistema de análise estatística computador. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.

JERBA, V. F.; MEDEIROS, S. R.; FERNANDES, C. D. **Forrageiras: principais fatores de antiquidade**. Campo Grande: Embrapa Gado de corte, 2004.

JORHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book Company, 1940. 523p.

KING, C. et al. Characterization for industrial purposes of the fibre anatomy of perennial ryegrass and tall fescue stem and leaf at three stages in the primary growth. **Grass and Forage Science**, Hoboken, v. 69, n. 1, p. 64-73, Mar. 2013.

KRAUS, J. E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997. 198p.

LEV-YADUN, S. Plant Fibers: initiation, growth, model plants, and open questions. **Russian Journal of Plant Physiology**, Moscow, v. 57, n. 3, p. 305-315, May 2010.

MAURI, J.; TECHIO, V.H.; DAVIDE, L.C.; PEREIRA, D.L.; SOUZA SOBRINHO, F.; PEREIRA, F.J. Forage quality in cultivars of *Brachiaria* spp.: association of lignin and fibers with anatomical characteristics. **Australian Journal of Crop Science**. v. 9, n. 12, 2015 (no prelo).

MOURA, R. L. et al. Características estruturais, interceptação de luz e massa de forragem em diferentes idades de rebrota do estilosantes Campo-Grande. **Revista Científica de Produção Animal**, Areia, v. 16, n. 1, p. 17-24, 2014.

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

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

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ, V. H. (Ed.). **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5a aproximação**. Viçosa, MG: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. 359p.

SILVA, S. C.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; EUCLIDES, V. B. P. **Pastagens: conceitos básicos, produção e manejo**. São Carlos: Suprema, 2008. 115 p.

SINHA, N. Leaf development in angiosperms. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 50, n. 1, p. 419-446, June 1999.

ARTIGO 2. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL PARA FORRAGEM DA FOLHA DE DIFERENTES GENÓTIPOS DO GÊNERO *BRACHIARIA* POR MEIO DA ANATOMIA VEGETAL

RESUMO

Existem muitas técnicas e áreas da ciência envolvidas no melhoramento genético de uma forrageira. No entanto, a utilização de dados anatômicos no estudo da digestibilidade dos tecidos dessas plantas ainda é muito recente, mas traz informações essenciais. Nesse sentido, com o presente trabalho objetivou-se de avaliar a associação entre características da anatomia foliar de diferentes genótipos de *Brachiaria* spp. e o seu potencial como forragem. Foram avaliadas as cultivares Marandu (*B. brizantha*), Basilisk (*B. decumbens*), Kennedy (*Brachiaria ruziziensis*) e três clones de *B. ruziziensis* (Clone 1, Clone 95 e Clone 97), os quais apresentam-se em processo de melhoramento. As plantas foram cultivadas em campo com condições de manejo recomendadas para a espécie. As plantas foram cortadas aos 60 dias e as folhas coletadas aos 15 dias de rebrota. As folhas foram fixadas e armazenadas em etanol 70% e submetidas à microtécnica usual para preparação de lâminas semipermanentes. Foram realizadas fotomicrografias e as imagens analisadas no software Image J. Verificaram-se as proporções de tecidos na região internervural e da nervura mediana. Na região internervural, a proporção de parênquima clorofiliano foi maior na *B. decumbens* e no Clone 1. A *B. brizantha* e os clones 95 e 97 apresentaram médias da proporção do feixe vascular total maiores que *B. ruziziensis*, *B. decumbens* e Clone 1. Na nervura mediana, a proporção do parênquima fundamental, foi maior em *B. brizantha*, Clone 95 e Clone 97. A proporção total dos feixes vasculares foi maior na *B. decumbens*, *B. ruziziensis* e Clone 1. Conclui-se que os genótipos *B. decumbens* e os provenientes de *B.*

ruzizensis, principalmente Clone 1 apresentam tecidos que podem gerar maior potencial de digestibilidade das folhas da forragem produzida.

Palavras chave – Digestibilidade. Forragicultura. Anatomia foliar. Esclerênquima. Lignina.

ABSTRACT

There is a great deal of techniques and areas of science involved in the genetic improvement of a forage plant. Nevertheless, the utilization of anatomical data in the study of digestibility of the tissues of those plants is still far recent, but it brings essential information. In that sense, the present work was designed to evaluate the association between the characteristics of the leaf anatomy of different genotypes of *Brachiaria* spp. and its potential as a forage plant. The cultivars Marandu (*B. brizantha*), Basilisk (*B. decumbens*), Kennedy (*Brachiaria ruzizensis*) and three clones of *B. ruzizensis* (Clone 1, Clone 95 and Clone 97), which present themselves in improvement process, were evaluated. The plants were cultivated in field under management conditions recommended for that species. The plants were cut at 60 days and the leaves were collected at 15 days' regrowth. The leaves were fixed and stored in 70% ethanol and submitted to the usual microtechnique for preparation of semipermanent slides. Photomicrographs were made and the images analyzed on software Image J. Proportions of tissues in the interveinal region and of the midrib were verified. In the interveinal region, the proportion of chlorophyllian parenchyma was greater in *B. decumbens* and in Clone 1. *B. brizantha* and clones 95 and 97 presented means of proportion of the total vascular bundle greater than *B. ruzizensis*, *B. decumbens* and Clone 1. On the midrib, the proportion of the fundamental parenchyma was greater in *B. brizantha*, Clone 95

and Clone 97. The total proportion of the vascular bundles was greater in *B. decumbens*, *B. ruziziensis* and Clone 1. It follows that the genotypes *B. decumbens* and those coming from *B. ruziziensis*, mainly Clone 1 presented tissues which can generate increased digestibility potential of the leaves of the produced forage.

Key words – Digestibility. Forage production. Leaf anatomy. Sclerenchyma. Lignin.

1 INTRODUÇÃO

As plantas do gênero *Brachiaria* são as mais utilizadas pelos pecuaristas do Brasil como forragem (KARIA; DUARTE; DE ARAÚJO, 2006). A cultivar australiana *B. decumbens* (cv. Basilisk) foi uma das primeiras a ser introduzida no país, apresentando melhor adaptação às condições brasileiras, entretanto, é suscetível a cigarrinha-da-pastagem (KARIA; DUARTE; DE ARAÚJO, 2006). O início de programas de melhoramento de forrageiras no Brasil, permitiu na década de 80, o lançamento da cultivar Marandu de *B. brizantha*, a qual apresenta boa qualidade como forragem e resistência a cigarrinha-da-pastagem (JANK; VALLE; RESENDE, 2005; JANK; VALLE; RESENDE, 2011).

Atualmente, existe um esforço no processo de melhoramento de *B. ruziziensis*, pois esta espécie apresenta um grande potencial como forrageira (JANK; VALLE; RESENDE, 2011). Além disso, existem estudos que comprovaram a presença de genes com informações de resistência a cigarrinha-da-pastagem nesta espécie (SOUZA SOBRINHO; AUAD; LÉDO, 2010).

Muitas linhas de pesquisas são incorporadas nos estudos sobre o melhoramento de uma forrageira (VALLE; JANK; RESENDE, 2009). Uma ferramenta complementar interessante que pode ser incluída para a contribuição

das pesquisas em melhoramento genético de forrageiras é a anatomia vegetal quantitativa. Esta técnica permite a comparação de espécies ou cultivares quanto ao potencial de digestibilidade da forragem baseado no percentual de tecidos foliares (BRITO; RODELLA; DESCHAMPS, 2004).

Muitos trabalhos com forrageiras já incluíram esta ferramenta como complementação de suas pesquisas para avaliar a qualidade da forragem (ALVES DE BRITO; RODELLA; DESCHAMPS, 2004; BAUER et al., 2008; SANTOS et al., 2013). Esta área da ciência permite identificar os tecidos que são pouco degradados na biota ruminal, devido à presença de compostos como lignina ou barreiras estruturais que podem impedir a ação dos microrganismos reduzindo a digestibilidade da forragem (BRITO et al., 1999; PACIULLO, 2002; BRITO; RODELLA; DESCHAMPS, 2004; MAURI et al., 2015).

Além disso, para a seleção de um genótipo forrageiro são necessários altos investimentos, além de anos de pesquisas (VALLE et al., 2008). A utilização da anatomia vegetal quantitativa é um instrumento de baixo custo, capaz de indicar as regiões da forragem que apresentarão maior potencial de digestibilidade pelo ruminante. Por isso, seria interessante a utilização desse instrumento na complementação de estudos envolvendo o melhoramento de forrageiras. Recentemente, alguns autores apontaram em seus trabalhos a utilização da anatomia vegetal para avaliar os tecidos lignificados de folhas de *Brachiaria spp.* (MAURI, et al., 2015) e avaliar genótipos promissores de *Brachiaria* (SANTOS et al., 2013). Nesse sentido, com o presente trabalho objetivou-se avaliar a associação entre características da anatomia foliar de diferentes genótipos de *Brachiaria spp.* e o potencial de digestibilidade das regiões foliares dos genótipos avaliados.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal e propagação das plantas

Foram avaliadas as cultivares Marandu (*B. brizantha*), Basilisk (*B. decumbens*), e Kennedy (*Brachiaria ruziziensis*) cv. Kennedy e três clones de *B. ruziziensis* (Clone 1, Clone 95 e Clone 97) em processo de seleção no programa de melhoramento da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora – Minas Gerais, Brasil. Esses genótipos foram avaliados no Campo Experimental da Embrapa Gado de Leite, localizado no município de Valença (Rio de Janeiro, Brasil). O solo foi classificado como Gleissolo Háptico (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2013) e a adubação foi realizada com base nos resultados da análise de solo e de acordo com as recomendações de Ribeiro et al. (1999). A correção do solo foi realizada com calcário dolomítico. A adubação de plantio foi de 300 kg ha⁻¹ da formulação 08-28-16 de NPK+ Zn. A adubação de cobertura foi realizada posteriormente empregando 50 kg N ha⁻¹. A irrigação foi feita sempre que a umidade do solo atingia 50% da capacidade de campo. O volume aplicado era o suficiente para restaurar 100% da capacidade de campo de acordo com análises prévias na área experimental. O corte de uniformização das parcelas (plantas) foi feito com 60 dias e as folhas foram coletadas aos 15 dias de rebrota.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos (genótipos) e seis repetições. A parcela experimental constou de uma folha por repetição, que foi proveniente da amostragem da propagação em campo.

2.2 Análise anatômica

Amostras de folhas inteiras foram coletadas e fixadas em F.A.A_{70%} (formaldeído: ácido acético glacial: etanol 70% na proporção de 0,5:0,5:9 v v⁻¹) por 72 horas (JOHANSEN, 1940). Após a fixação, as folhas foram conservadas em etanol 70%, em temperatura ambiente até a data das análises.

As seções transversais das folhas foram realizadas à mão livre, com o auxílio de uma lâmina de aço no terço inferior da lâmina foliar, logo após o final da bainha. Foram realizadas seções na região da nervura central e da área internervural da lâmina foliar. As análises foram realizadas no terço inferior da lâmina, pois o sistema vascular das folhas possui desenvolvimento acrópeto sendo que as partes mais basais das folhas possuem uma maturação mais rápida do esclerênquima presente nos feixes vasculares (BECK, 2010).

Os cortes foram clarificados em solução de hipoclorito de sódio 50% (v v⁻¹), lavados em água destilada duas vezes por 10 minutos. As seções foram coradas com solução de safranina e azul de astra [safranina 0,01% (m v⁻¹) e azul de astra 0,99% (m v⁻¹)] (KRAUS; ARDUIN, 1997) e montadas em lâminas semi-permanentes em glicerol 50% (v v⁻¹). Foram capturadas imagens das lâminas em microscópio Leica DMLS (Leica Microsystems Wetzlar GmbH, Wetzlar, Germany) acoplado à câmera digital Nikon SIGHT DS- S11.

Para cada repetição foi confeccionada uma lamina e avaliados quatro campos por lamina.

As imagens foram analisadas, tanto para a região internervural quanto para a nervura mediana, com a versão do software *software Image J* obtendo-se a área dos seguintes tecidos: epiderme da face adaxial; epiderme da face abaxial; parênquima clorofiliano; somatório das áreas do floema dos feixes vasculares; média da área do floema em um único feixe vascular; somatório das áreas das bainhas dos feixes vasculares; somatório das áreas dos feixes vasculares; somatório das áreas do xilema dos feixes vasculares; média da área do xilema em um único feixe vascular; somatório das áreas das fibras; média da área das

fibras em um feixe vascular e área total da folha na imagem. Para a obtenção das proporções considerou-se a área de cada tecido mensurado dividido com a área total da folha nas imagens, multiplicado por 100.

2.3 Análise estatística

Os dados foram testados quanto a sua normalidade pelo teste Shapiro-Wilk. Em seguida esses dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott para $p \leq 0,05$. A análise estatística foi realizada com o auxílio do software estatístico Sisvar 5.0 (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS

3.1 Anatomia quantitativa

3.1.1 Região Internervural

Como demonstrado na Tabela 1, às proporções da epiderme da face adaxial e da face abaxial, não apresentaram diferenças significativas em função dos genótipos.

Tabela 1 Proporção dos tecidos foliares de genótipos de *Brachiaria* spp., aos 15 dias de rebrota, na região internervural. UFLA, Lavras, MG, 2015.

<i>Tecidos</i>	<i>Genótipos</i>					
	<i>B. brizantha</i>	<i>B. decumbens</i>	<i>B. ruziziensis</i>	Clone 1	Clone 95	Clone 97
EAD (%)	16,30 a	17,19 a	16,78 a	16,04 a	17,19 a	17,44 a
EAB (%)	8,94 a	10,01 a	9,70 a	9,88 a	10,01 a	9,65 a
PAR (%)	39,84 c	44,13 a	41,97 b	45,24 a	38,39 c	38,30 c
FLT (%)	2,98 a	2,06 d	2,40 c	2,52 c	2,76 b	2,66 b
FLFV (%)	8,57 a	7,21 b	7,61 b	8,72 a	8,04 b	7,68 b
BFV (%)	50,52 c	55,29 a	53,99 b	50,96 c	51,96 c	52,89 b
FVT (%)	34,91 a	28,66 c	31,54 b	28,84 c	34,40 a	34,60 a
XLT (%)	10,03 a	7,28 b	8,27 b	8,15 b	7,70 b	9,86 a
XLFV (%)	28,73 a	25,39 b	26,23 b	28, 17 b	22,83 c	28,50 a
FBT (%)	5,01 a	4,51 b	4,85 a	4,42 b	4,89 a	4,74 a
FBFV (%)	14,54 b	15,68 a	15,32 a	15,36 a	14,03 b	13,69 b

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Scott -Knott para 5% de significância. Legenda: Proporção da epiderme da face adaxial (EAD%); proporção da epiderme da face abaxial (EAB%); proporção do parênquima clorofiliano (PAR%); proporção do somatório das áreas do floema dos feixes vasculares (FLT%); proporção da média da área do floema em um único feixe vascular (FLFV%); proporção das áreas das bainhas nos feixes vasculares (BFV%); proporção do somatório das áreas dos feixes vasculares (FVT%); proporção do somatório das áreas do xilema dos feixes vasculares (XLT%); proporção da média da área do xilema em um único feixe vascular (XLFV%); proporção do somatório das áreas das fibras (FBT%), proporção da média da área das fibras em um feixe vascular (FBFV%).

A proporção de parênquima clorofiliano foi maior nos genótipos *B. decumbens* e Clone 1, enquanto proporção de floema total foi maior em *B. brizantha*, que apresentou também maior proporção do floema no feixe vascular, juntamente com o Clone 1. A proporção de células da bainha no feixe foi maior em *B. decumbens* em comparação aos genótipos *B. ruziziensis*, Clone 97, Clone 95, Clone 1 e *B. brizantha*. Médias superiores foram apresentadas por *B. brizantha* Clone 95 e Clone 97 na proporção do feixe vascular total. Com relação às proporções de xilema total e de xilema no feixe vascular as maiores médias foram observadas em *B. brizantha* e Clone 97.

A proporção de fibras totais foi maior em *B. brizantha*, *B. ruziziensis*, Clone 95 e Clone 97. Considerando a proporção de fibras no feixe vascular *B. decumbens*, *B. ruziziensis* e Clone 1 foram aqueles que apresentaram as maiores médias (Tabela 1).

3.1.2 Região da Nervura Mediana

Resultados referentes à região da nervura mediana estão representados na Tabela 2. A *B. decumbens* apresentou as maiores médias para as proporções da epiderme nas faces adaxial e abaxial. Para a esta última, a *B. ruziziensis* apresentou média semelhante à *B. decumbens*. Enquanto que a proporção do parênquima fundamental, foi maior em *B. brizantha*, Clone 95 e Clone 97, em comparação com Clone 1, *B. decumbens* e *B. ruziziensis*. A proporção do floema total, foi maior no Clone 1 em comparação com os demais genótipos, o mesmo observa-se para a proporção de floema no feixe vascular. Quanto à proporção de células da bainha no feixe, esta foi maior em *B. decumbens* e *B. ruziziensis* (Tabela 2).

A proporção total dos feixes vasculares, foi maior *B. decumbens*, *B. ruziziensis* e Clone 1. A nervura central apresenta uma maior proporção total de xilema em *B. decumbens*, Clone 1 e Clone 97. Nos feixes vasculares foi

observada uma maior proporção de xilema em *B. brizantha*, Clone 1 e Clone 97. A proporção de fibras totais, foi maior em *B. decumbens*, *B. ruzizensis* e Clone 1, em comparação aos demais genótipos. Quanto à proporção de fibras no feixe vascular, as maiores médias foram observadas nos Clones 1 e 97 (Tabela 2).

Tabela 2 Proporção dos tecidos foliares de genótipos de *Brachiaria* spp., aos 15 dias de rebrota, na região da nervura mediana. UFLA, Lavras, MG, 2015.

Tecidos	Genótipos					
	<i>B. brizantha</i>	<i>B. decumbens</i>	<i>B. ruziziensis</i>	Clone 1	Clone 95	Clone 97
EAD (%)	1,18 c	2,21 a	1,60 b	1,68 b	1,57 b	1,56 b
EAB (%)	3,30 b	3,73 a	3,89 a	2,88 c	2,15 e	2,64 d
PAR (%)	65,15 a	60,34 c	60,74 c	62,42 b	65,70 a	64,91 a
FLT (%)	1,24 b	1,25 b	1,38 b	1,66 a	1,11 c	1,26 b
FLFV (%)	5,41 b	4,87 c	5,37 b	6,75 a	4,78 c	5,33 b
BFV (%)	50,98 b	54,17 a	54,47 a	45,96 d	52,39 b	48,95 c
FVT (%)	23,25 b	25,64 a	25,61 a	24,56 a	23,16 b	23,80 b
XLT (%)	4,26 b	4,50 a	3,90 b	4,81 a	4,07 b	4,40 a
XLFV (%)	18,37 a	17,48 b	15,23 c	19,62 a	17,53 b	18,62 a
FBT (%)	7,11 b	8,07 a	8,14 a	8,45 a	7,41 b	7,09 b
FBFV (%)	25,31 b	23, 47 b	24, 92 b	27,66 a	25,30 b	27,10 a

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Scott -Knott para 5% de significância. Legenda: Proporção da epiderme da face adaxial (EAD%); proporção da epiderme da face abaxial (EAB%); proporção do parênquima clorofiliano (PAR%); proporção do somatório das áreas do floema dos feixes vasculares (FLT%); proporção da média da área do floema em um único feixe vascular (FLFV%); proporção das áreas das bainhas nos feixes vasculares (BFV%); proporção do somatório das áreas dos feixes vasculares (FVT%); proporção do somatório das áreas do xilema dos feixes vasculares (XLT%); proporção da média da área do xilema em um único feixe vascular (XLFV%); proporção do somatório das áreas das fibras (FBT%), proporção da média da área das fibras em um feixe vascular (FBFV%).

3.2 Anatomia qualitativa

3.2.1 Região internervural

Observa-se dentro dos seis genótipos do gênero *Brachiaria* spp, que não houve diferença quanto a estrutura geral da folha. Na região internervural dos genótipos avaliados (Figura 1), foi observado presença de epiderme unisseriada tanto na face adaxial, quanto na abaxial.

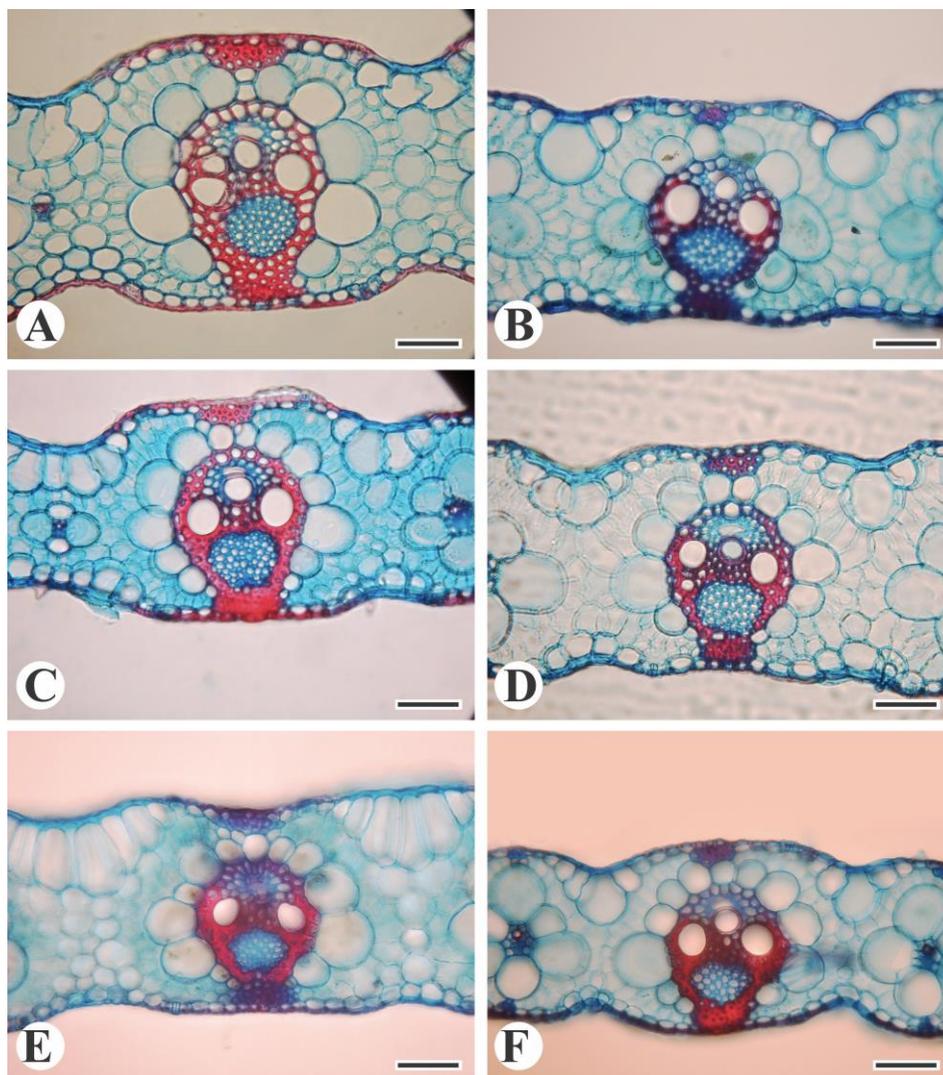


Figura 1 Estrutura anatômica da região internervural dos genótipos de *Brachiaria* spp..
 Legenda: **A-** *B. brizantha*, **B-** *B. decumbens*; **C-** *B. ruziziensis*; **D-** Clone 1; **E** – Clone 95; **F-** Clone 97. **Barra= 50 µm**. UFLA, Lavras, MG, 2015.

A face adaxial mostrou presença de células buliformes. Na região do mesofilo, entre as duas epidermes, observa-se a presença do parênquima clorofiliano, com células de morfologia e tamanho variáveis. Nota-se ainda, a presença de feixes vasculares colaterais fechados, com uma camada de células

da bainha do feixe bastante desenvolvida, e uma camada interna formada por um anel de fibras do esclerênquima. Na região interna da face adaxial, encontra-se a extensão do feixe vascular, contendo fibras do esclerênquima.

Visualmente, percebe-se variação das proporções dos tecidos entre os genótipos. Nota-se, maior desenvolvimento da região internervural nos genótipos de *B. brizantha* (Figura 1- A) e Clone 1 (Figura 1- D), os quais apresentam maior quantidade de parênquima clorofiliano, em comparação com os genótipos de *B. decumbens* (Figura 1-B), *B. ruziziensis* (Figura 1- C), Clone 95 (Figura 1- E) e Clone 97 (Figura 1- F). Quanto a quantidade de fibras de esclerênquima e xilema os genótipos de *B. decumbens* (Figura 1-B), Clone 1 (Figura 1- D) e Clone 97 (Figura 1- F) mostram menores quantidades em comparação com *B. brizantha* (Figura 1- A), *B. ruziziensis* (Figura 1- C) e Clone 95 (Figura 1- E) e Clone 97 (Figura 1- F).

3.2.2 Região da nervura mediana

Todos os genótipos apresentam epiderme unisseriada nas duas faces da folha (abaxial e adaxial). A face adaxial apresenta uma região contendo fibras de esclerênquima, logo abaixo da epiderme, em toda a nervura (Figura 2).

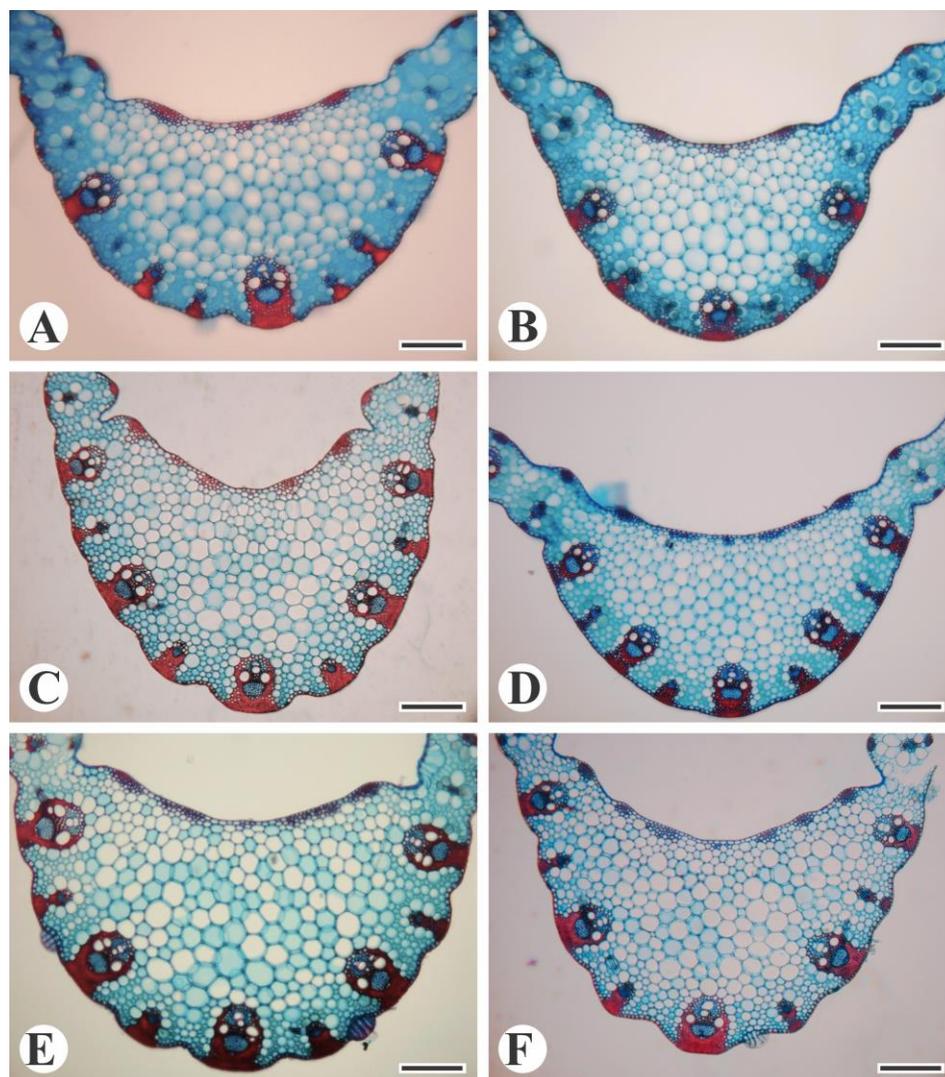


Figura 2 Estrutura anatômica da região da nervura mediana dos genótipos de *Brachiaria* spp. Legenda: **A-** *B. brizantha*, **B-** *B. decumbens*; **C-** *B. ruziziensis*; **D-** Clone 1; **E** – Clone 95; **F-** Clone 97. Barra= 100 μ m. UFLA, Lavras, MG, 2015.

A região central da nervura apresenta uma grande região composta de parênquima fundamental. Na face abaxial da folha, estão localizados os feixes vasculares colaterais fechados, com diferentes tamanhos, e suas extensões de

fibras de esclerênquima estão voltadas para o lado interno da face adaxial da epiderme.

Visivelmente, percebe-se a variação quanto à proporção dos tecidos entre os seis genótipos avaliados. O tamanho da nervura mediana seguiu a ordem crescente de Clone 95 (Figura 2-E), *B. ruziziensis* (Figura 2-C), Clone 97 (Figura 2-F), *B. brizantha*, Clone 1 (Figura 2-D) e *B. decumbens* (Figura 2-B), enquanto *B. brizantha* (Figura 2-A) e *B. decumbens* (Figura 2-B) apresentaram aparentemente, menores quantidades de fibras que os demais.

4 DISCUSSÃO

Atualmente, existe uma grande necessidade de selecionar forrageiras que ofereçam tolerância ou resistência aos tipos de estresse ambiental e melhor qualidade nutricional (EUCLIDES et al., 2010). Um genótipo de forrageira que apresente essas características citadas proporcionará melhoria não somente na qualidade nutricional, como aumentará o potencial de produção de produtos derivados (EUCLIDES et al., 2010; JANK; VALLE; RESENDE, 2011). Diante disso, uma das dificuldades que os programas de melhoramento enfrentam é o longo tempo que leva a identificação e seleção das melhores forrageiras, além dos altos investimentos nesse procedimento (VALLE; JANK; RESENDE, 2009).

Para atender essa necessidade, no presente trabalho, utilizou-se a anatomia vegetal, com o objetivo de identificar tecidos que irão gerar maior potencial de digestibilidade, e como era de se esperar, a estrutura dos tecidos apresentou a mesma organização dentro dos seis genótipos avaliados. No entanto, a proporção de tecidos mostrou claramente a variação entre os genótipos. Essa avaliação prévia, quanto à organização dos tecidos, é importante, porque existe muita variabilidade nas folhas de plantas da família

Poaceae (DENGLER et al., 1994). Sendo assim, é possível realizar as avaliações das proporções dos tecidos das folhas sem problemas quanto à organização dos tecidos foliares.

Por meio da anatomia vegetal quantitativa, foi verificado na região internervural, que os genótipos *B. decumbens* e Clone 1, podem exibir tecidos com maior potencial de digestibilidade. Esses genótipos apresentaram maior proporção de parênquima clorofiliano, tecido que proporciona o maior potencial de digestibilidade, além disso, apresentaram também, menores proporções de feixes vasculares, xilema e fibras de esclerênquima. Sabe-se que o esclerênquima e o xilema são os tecidos da planta com menor digestibilidade (PACIULLO, 2002).

Dentre esses genótipos que se sobressaíram na região internervural, é possível identificar nas imagens, que o Clone 1 mostrou grande desenvolvimento da região contendo parênquima clorofiliano, e em *B. decumbens* menor quantidade de fibras seguido do Clone 1. Para a interpretação desses dados, levou-se em consideração o trabalho de Brito et al. (1999), esses autores verificaram que dentro do rúmen, por meio da ação dos microrganismos, os tecidos seguem uma ordem decrescente de degradação: parênquima > floema > epiderme > bainha parenquimática > xilema e esclerênquima. Sendo assim, quanto maior a presença de tecidos lignificados, menor a digestibilidade, refletindo na qualidade de nutrientes disponíveis na forragem (BRITO et al., 1999; PACIULLO, 2002; PACIULLO et al., 2002; JERBA; MEDEIROS; FERNANDES, 2004; BAUER et al., 2008). Isso porque a disponibilidade do conteúdo celular digerível fica retida com a presença das paredes celulares lignificadas (PACIULLO, 2002) e os microrganismos que auxiliam na digestão dos ruminantes degradam somente os polissacarídeos da parede celular, não possuindo a capacidade de digerir a lignina (CLIPES et al., 2010; MARKOVIC et al., 2012).

A cultivar australiana *B. decumbens* Basilisk foi selecionada pela alta produtividade nos anos de 1956 e 1966 na Austrália, e sua introdução do Brasil foi na década de 1960, período pelo qual foi plantada em larga escala, apresentando boa adaptabilidade às condições brasileiras além de grande retorno aos produtores quanto a produção de bovinos (VALLE et al., 2008). Antes, era impossível a produção de cultivares melhoradas desta espécie, devido à falta de ecotipos compatíveis (MENDONÇA et al., 2013). Entretanto, no ano de 2009 um experimento em campo utilizando a cultivar Basilisk obteve sucesso produzindo híbridos resistentes à cigarrinha e melhorou a qualidade da forragem em mais ciclos de recombinação (EUCLIDES et al., 2010).

Após os prejuízos ocasionados à pecuária brasileira pelos ataques das cigarrinha-das-pastagens em *B. decumbens*, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) lançou no país na década de 1980, a cultivar resistente a esses insetos, *B. brizantha* Marandu (KARIA; DUARTE; ARAÚJO, 2006; JANK; VALLE; RESENDE, 2011) que também apresenta um alto valor nutricional (KARIA, DUARTE, DE ARAÚJO, 2006). Este genótipo de *B. brizantha* se sobressaiu na região da nervura mediana, juntamente com o Clone 95 e Clone 97. É possível ter uma noção prévia do desenvolvimento dessa região, visualizando a imagem do Clone 95, a qual mostrou grande quantidade do parênquima fundamental em relação aos demais genótipos.

Observa-se também, menores proporções de feixes vasculares totais e de tecidos contendo fibras de esclerênquima em relação à proporção de parênquima fundamental. Trabalhando com genótipos de *Panicum maximum*, Gomes et al. (2011) também verificaram que a quantificação das proporções de tecidos vasculares e esclerênquima, podem auxiliar na seleção de genótipos quanto ao valor nutritivo.

Recentemente, alguns estudos incluíram a anatomia vegetal quantitativa para avaliar genótipos promissores de *Brachiaria* (SANTOS et al., 2013) e para

quantificar o componente lignina em fibras de diferentes cultivares de *Brachiaria* (MAURI et al., 2015). Dessa forma, esse instrumento pode ser utilizado nos programas de melhoramento das forrageiras, auxiliando na verificação de genótipos que apresentam tecidos que podem gerar maior potencial de digestibilidade e assim gerar melhor qualidade da forragem, além de auxiliar no acompanhamento da homogeneização dos tecidos de melhor digestibilidade nas regiões foliares dos genótipos selecionados.

Observou-se que tanto o Clone 1, quanto o Clone 95 apresentaram tecidos foliares que podem gerar melhor potencial de digestibilidade. Estes clones pertencem à espécie *B. ruziziensis*, uma forrageira que foi introduzida na década de 1970 no país (KARIA; DUARTE; DE ARAÚJO, 2006) e que apresenta grande potencial nutritivo, mostrando-se com alta qualidade de forragem (JANK; VALLE; RESENDE, 2011; THAIKUA et al., 2015). Além disso, esta forrageira é muito promissora nos programas de melhoramento, e há um esforço muito grande com objetivo de selecionar populações resistentes à cigarrinha (SOUZA SOBRINHO; AUAD; LÉDO, 2010). Segundo Souza Sobrinho et al. (2009) *B. ruziziensis* apresenta excelentes possibilidades para a seleção de genótipos com maior potencial forrageiro, podendo até mesmo superar as cultivares de uso mais difundido no Brasil. Por esse motivo, estudos direcionados com esta espécie podem apresentar resultados satisfatórios na produção de forragens de qualidade quanto ao valor nutricional.

Considerando o grande esforço e sucesso esperado no melhoramento de forragem proveniente de *B. ruziziensis*, e que a maior quantidade de biomassa na folha está localizada no limbo da foliar, na região internervural, em comparação com a região da nervura mediana, pode-se considerar que os clones em melhoramento, especialmente Clone 1 apresentam tecidos que podem gerar maior potencial de digestibilidade entre os genótipos avaliados. Além desse genótipo, *B. decumbens* também se sobressaiu entre os demais genótipos

avaliados. Esses dois genótipos que se sobressaíram no estudo, são provenientes de espécies muito promissoras nos novos programas de melhoramento, pois ambas as espécies possuem alta palatabilidade e valor nutritivo (JANK; VALLE; RESENDE, 2011).

5 CONCLUSÕES

Pode-se concluir que a estrutura anatômica foliar é diferente entre os genótipos avaliados, e que *B. decumbens* e o Clone 1 de *B. ruziziensis* possuem tecidos com maior potencial de digestibilidade. Seria interessante direcionar nesses genótipos, em estudos posteriores, para gerar tecidos com menores taxas de fibras e maiores de parênquima.

6 REFERÊNCIAS

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

BECK, C.B. **An introduction to plant structure and development: plant anatomy for the twenty-first century**. 2. ed. New York: Cambridge University Press, 2010. 441p.

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

BRITO, C. J. F. A.; RODELLA, R. A.; DESCHAMPS, F. C. Anatomia quantitativa da folha e do colmo de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf. e *B. humidicola* (Rendle) Schweick. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.33, n.3, p. 519-528, maio/jun. 2004.

CLIPES, R. C. et al. Predição da fração indegradável da fibra em detergente neutro em forragens tropicais a partir da concentração de lignina. **Revista**

Brasileira de Saúde e Produção Animal, Salvador, v. 11, n. 4, p. 999-1011, out./dez. 2010.

DENGLER, N. G. et al. Quantitative leaf anatomy of C3 and C4 grasses (Poaceae): Bundle sheath and mesophyll surface area relationships. **Annals of Botany**, Oxford, v. 73, n. 3, p. 241-255, Mar. 1994.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Brasília, 2013. 353p.

EUCLIDES, V. P. B. et al. Brazilian scientific progress in pasture research during the first decade of XXI century. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 39, p. 151-168, Jul. 2010. Suplemento especial.

FERREIRA, D. F. Sisvar: um sistema de análise estatística computador. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.

GOMES, R. A. et al. Características anatômicas e morfofisiológicas de lâminas foliares de genótipos de *Panicum maximum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 2, p. 205-211, Feb. 2011.

JANK, L.; VALLE, C. B.; RESENDE, R. M. S. Breeding tropical forages. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 11, p. 27-34, jun. 2011. Especial.

JANK, L.; VALLE, C. B.; RESENDE, R. M. S. Genética em pastagem. **Revista USP**, São Paulo, n. 64, p. 86-93, dez./fev. 2004-2005.

JERBA, V. F.; MEDEIROS, S. R.; FERNANDES, C. D. **Forrageiras**: principais fatores de antiqualidade. Campo Grande: Embrapa Gado de corte, 2004.

JORHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book Company, 1940. 523p.

KARIA, C. T.; DUARTE, J. B.; ARAÚJO, A. C. G. de. Desenvolvimento de cultivares do gênero *Brachiaria* (trin.) Griseb. no Brasil. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2006. 57 p. (Documentos, 163).

KRAUS, J. E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997. 198p.

MAURI, J.; TECHIO, V.H.; DAVIDE, L.C.; PEREIRA, D.L.; SOUZA SOBRINHO, F.; PEREIRA, F.J. Forage quality in cultivars of *Brachiaria* spp.: association of lignin and fibers with anatomical characteristics. **Australian Journal of Crop Science**. v. 9, n. 12, 2015 (no prelo).

MARKOVIĆ, J. P. et al. Changes in lignin structure with maturation of alfalfa leaf and stem in relation to ruminants nutrition. **African Journal of Agricultural Research**, Lagos, v. 7, n. 2, p. 257-264, Jan. 2012.

MENDONÇA, S. A. et al. Agronomic and nutritional evaluation of intraspecific crosses in *Brachiaria decumbens*. **Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales**, Cali, v. 1, n. 1, p. 103- 105, Sept. 2013.

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

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

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ, V. H. (Ed.). **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5a aproximação**. Viçosa, MG: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. 359p.

SANTOS, F.C. et al. Leaf anatomy and nutritive values of *Brachiaria ruziziensis* genotypes. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Hoboken, v. 57, n. 2, p. 128-135, May 2014.

SOUZA SOBRINHO, F.; AUAD, A. M.; LÉDO F. J. S. Genetic variability in *Brachiaria ruziziensis* for resistance to spittlebugs. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 10, n. 1, p. 83-88, 2010.

SOUZA SOBRINHO, F. et al. Melhoramento de gramíneas forrageiras na Embrapa Gado de Leite. In: EVANGELISTA A. R.; SOUZA, F. F. (Ed.). *Forragicultura e pastagem*. Lavras: UFLA, 2009.

THAIKUA, S. et al. Preliminary evaluation on digestibility and the relation to morphology and water content of *Brachiaria* spp. and their heritability. **Grassland Science**, Hoboken, v. 61, n. 2, p. 92-100, June 2015.

VALLE C. B. et al. Melhoramento genético de *Brachiaria*. In: RESENDE, R. M. S.; VALLE, C. B. do; JANK, L. (Ed.). **Melhoramento de Forrageiras Tropicais**. Campo Grande: Embrapa, 2008. p. 13-53.

VALLE, C. B.; JANK, L.; RESENDE, R. M. S. O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. **Ceres**, Viçosa, MG, v. 56, n. 4, p. 460-472, jul./ago. 2009.