



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ARAGUAÍNA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CURSO DE ZOOTECNIA



ANTONIO DE SOUSA JÚNIOR

**ANATOMIA FOLIAR QUANTITATIVA DO CAPIM MARANDU
SOB INFLUÊNCIA DO NITROGÊNIO**

ARAGUAÍNA – TO

2014

ANTONIO DE SOUSA JÚNIOR

**ANATOMIA FOLIAR QUANTITATIVA DO CAPIM MARANDU
SOB INFLUÊNCIA DO NITROGÊNIO**

Relatório apresentado à Escola de Medicina Veterinária e
Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins, como
requisito para a obtenção do grau de Bacharel em Zootecnia

Orientador: Prof. Dr. Antonio Clementino dos Santos

Supervisor: Msc. Leonardo Bernardes Taverny de Oliveira

ARAGUAÍNA – TO

2014

ANTONIO DE SOUSA JÚNIOR

**ANATOMIA FOLIAR QUANTITATIVA DO CAPIM MARANDU
SOB INFLUÊNCIA DO NITROGÊNIO**

Relatório apresentado à Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins, como requisito para a obtenção do grau de Bacharel em Zootecnia

Orientador: Prof. Dr. Antonio Clementino dos Santos

Supervisor: Msc. Leonardo Bernardes Taverny de Oliveira

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antonio Clementino dos Santos
UFT – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia
Orientador

Msc. Otacílio Silveira Júnior
UFT – Programa de Pós-graduação em Ciência Animal Tropical
Examinador

Msc. Leonardo Bernardes Taverny de Oliveira
UFT – Programa de Pós-graduação em Ciência Animal Tropical
Examinador

*Dedico este trabalho à minha Família,
especialmente aos meus pais:*

Toinho & Cláudia

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus – Criador do Universo – pelas inúmeras vezes que interviu de alguma forma pelo melhor em minha vida. Sem a sua ajuda eu não teria conseguido.

Agradeço aos meus pais: Toinho & Cláudia, por acreditar em mim, pelo amor, pelo carinho, pelos ensinamentos, pela oportunidade e por todo o esforço para me manter em Araguaína durante este curso. Sem vocês eu não teria conseguido.

Agradeço minha irmãzinha, Melissa, que durante essa árdua trajetória sempre me aguardou com um sorriso e um forte abraço.

Agradeço minha namorada, Marina, pelo amor, pelo carinho, pela compreensão e, principalmente, pelo companheirismo e ajuda em todos os momentos que precisei. Sem você eu não teria conseguido.

Agradeço ao Professor Antonio Clementino, pela amizade, pela orientação durante todo o curso, pelas conversas descontraídas, pelo apoio, pelos ensinamentos e pela oportunidade concedida e incentivo constante.

Agradeço também ao Professor Emerson Alexandrino, pela grande oportunidade de ingressar na Ciência, pela orientação, pelo apoio, pelo incentivo, pelo conhecimento e pela influência transmitida durante os 4 anos de orientação.

Ao Professor José Neuman agradeço pelo exemplo, pelos ensinamentos, pela confiança e pela influência exercida.

Agradeço aos professores José Geraldo, Gerson, Rubens, Elcivan, Roberta, Kênia, Fabrícia, Silvia, Rômulo, Luciano, Alencariano, Heloísa, Suzana, João Vidal e Helciléia.

Agradeço ao senhor Edson Alencar e a senhora Elisa Alcântara, pela amizade, pelo acolhimento em sua residência, pela confiança, pelos conselhos e por compartilhar seus momentos e sua família comigo.

Agradeço aos meus amigos, Márcio, Marcos (Neguim), Francianne e Ana Carolina, por todos os momentos difíceis e felizes que passamos juntos durante este curso.

Agradeço ao amigo Rossini, pessoa que tive o prazer de conhecer logo nos primeiros meses de curso e que se mostrou um dos melhores amigos e professores que já tive.

Agradeço ao amigo Leonardo, pela ajuda na confecção deste trabalho, pelo compartilhamento do conhecimento e pela amizade.

Ao amigo Regis Missio, quero agradecer pelo conhecimento transmitido, pela ajuda na iniciação científica e pela grande influência que me prestou enquanto pesquisador.

Ao amigo-irmão Jonahtan, agradeço pelo companheirismo, pela ajuda, pela amizade verdadeira e pelos grandes ensinamentos.

Ao amigo Joaquim, quero agradecer pelo companheirismo, pelo auxílio prestado sempre que precisei e pela amizade.

Aos amigos e companheiros de pesquisa, André (Gabirú), Messias, Darlene, Danilo (Manga), Carlos Alberto (Carlão) e Gilson, quero agradecer pela amizade, pela compreensão e pelos auxílios prestados sempre que precisei.

Aos amigos Raylon, Odislei, Perlon, Otacílio, Sabino, Aridouglas e Antonio, agradeço a amizade.

Aos amigos vigilantes: Valkirio, Manoel e José Antonio, agradeço pela grande amizade firmada, pelas conversas descontraídas e pelos auxílios prestados.

Aos colegas de turma: Luan, Victor Luiz (Vitão), Camila, Walquíria, Bárbara, Karla, Raylla, Wanderson, Elis-Regina, Gustavo, Hitácio, Hugo Leonardo, Danilo Vaz, Geraldo, e Ionaira agradeço a amizade e o companheirismo.

Aos colegas de curso: Ayandra, Brena, Maissy, Bruno Vidal, Ueslley, Mário Neto, Bruno Reis, Augustinho, Hugo Mariano, Daniel Johanson, Jéssika França, Jefersson (Xibel), Jhonny (Moicano), Rafael (Paçoca), agradeço a amizade e o companheirismo.

Muito Obrigado!

Mãos dadas

*“Não serei o poeta de um mundo caduco.
Também não cantarei o mundo futuro,
Estou preso à vida e olho meus companheiros.
Estão taciturnos, mas nutrem grandes esperanças.
Entre eles, considero a enorme realidade.
O presente é tão grande, não nos afastemos.
Não nos afastemos muito, vamos de mãos dadas.*

*Não serei o cantor de uma mulher, de uma história,
Não direi os suspiros ao anoitecer, a paisagem vista da janela.
Não distribuirei entorpecentes ou cartas de suicida
Não fugirei para as ilhas nem serei raptado por serafins.*

O tempo é a minha matéria.

O tempo presente

Os homens presentes

A vida presente.”

Carlos Drummond de Andrade

SOUSA JÚNIOR, A. **Anatomia foliar quantitativa do capim Marandu sob influência do nitrogênio** (Monografia de Zootecnia – Universidade Federal do Tocantins), 30 p., 2014.

RESUMO

Objetivou-se analisar a anatomia foliar quantitativa do capim Marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) submetido à doses de N (0; 25; 50; 75 e 100 kg ha⁻¹). Foram analisadas as seguintes características: espessura da lâmina foliar (ELF), espessura da epiderme adaxial (EED), espessura da epiderme abaxial (EEB), distância entre feixes vasculares (DFV), diâmetro do metafloema (DFL), diâmetro do metaxilema (DXL), espessura do mesofilo (EME), percentagem de células buliformes (%CBU), percentagem da bainha do feixe vascular (%BFV) e percentagem de esclerênquima (%ESC). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, teste F e quando significativos ($p \leq 0,05$), foram aplicados os modelos de regressão adequados à natureza das respostas. A ELF teve resposta linear positiva ($p < 0,01$) com o aumento na dose de N. A EED apresentou resposta linear negativa ($p < 0,05$) e o inverso foi observado para a EEB ($p < 0,01$). A DFV não foi alterada ($p > 0,05$) com as doses de N, já o DFL e o DXL tiveram respostas semelhantes, com aumento linear positivo ($p < 0,05$). A EME e a %CBU aumentaram linearmente ($p < 0,05$). A %BFV não foi alterada ($p > 0,05$) com o aumento na dose de N e a %ESC apresentou resposta linear negativa ($p < 0,05$). A adubação nitrogenada provoca alterações na anatomia foliar do capim Marandu, revelando adaptação à condição de maior disponibilidade de substrato para o crescimento.

PALAVRAS-CHAVE: adubação, estrutura, folha, forrageira, tecidos.

SOUSA JÚNIOR, A. **Quantitative leaf anatomy of grass Marandu under the influence of nitrogen** (Monograph of Animal Science - Federal University of Tocantins), 30 p., 2014.

ABSTRACT

Aimed to analyze the anatomy's leaf of Marandu grass (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu.) submitted to N rates (0, 25, 50, 75 and 100 kg ha⁻¹). These characteristics were analyzed: thickness of the leaf blade (TLF), thickness of adaxial epidermis (TAE), thickness of the abaxial epidermis (TAE), distance between vascular bundles (DVB), diameter of the phloem (DPL), diameter of xylem (DXL), thickness of mesophyll (TME), percentage of bulliform cells (CBU%), percentage of the bundle sheath (BFV%) and percentage of sclerenchyma (SCL%). The data were subjected to analysis of variance by F test, and when were significant ($p \leq 0,05$), the models appropriate to the nature of the response regression were applied. The TLF had positive linear response ($p < 0.01$) with increasing dose of N. TAE showed a negative linear response ($p < 0.05$) and the reverse was observed for the TAE ($p < 0.01$). The DVB was unchanged with doses of N ($p > 0.05$), but the DPL and the DXL had similar responses, with the positive linear increase ($p < 0.05$). TME and CBU% had a increased linearly ($p < 0.05$). The BFV% was not altered ($p > 0.05$) with increasing N and the SCL% showed a negative linear response. The Nitrogen fertilization causes changes in leaf's anatomy of Marandu grass (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu), which seems to be an adaptation to the condition of most substrate availability for growth.

KEYWORDS: fertilization, structure, leaf, forage, tissues.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Dados de precipitação pluvial e irradiância solar durante o período experimental.....17

Figura 2. Espessura da lâmina foliar (ELF), distância entre feixes vasculares (DFV), espessura da epiderme adaxial (EED), espessura da epiderme abaxial (EEB), diâmetro do metafloema (DFL) e diâmetro do metaxilema (DXL) de folhas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetida à doses de nitrogênio.....20

Figura 3. Espessura do mesofilo (EME), percentagem de células buliformes (%CB), percentagem da bainha do feixe vascular (%BFV) e percentagem de esclerênquima (%ESC) em folhas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetida à doses de nitrogênio.....22

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Temperatura máxima (Tmax), Temperatura mínima (Tmim) e Umidade relativa do ar e (UR) durante o período experimental..... | 17 |
|--|----|

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

| Sigla/Abreviatura | Significado |
|--------------------|---|
| %BFV | Percentagem da bainha do feixe vascular |
| %CBU | Percentagem de células buliformes |
| %ESC | Percentagem de esclerênquima |
| °C | Graus Célsius |
| Abr | Abril |
| Al | Alumínio |
| Ca | Cálcio |
| CaCl ₂ | Cloreto de Cálcio |
| cmolc | Centimol de carga |
| Dez | Dezembro |
| DFL | Diâmetro do floema |
| DFV | Distância entre feixes vasculares |
| dm ⁻³ | Decímetro cúbico |
| DXL | Diâmetro do xilema |
| EEB | Espessura da epiderme abaxial |
| EED | Espessura da epiderme adaxial |
| ELF | Espessura da lamina foliar |
| EME | Espessura do mesofilo |
| FAA ^{50%} | Formaldeído + ácido acético glacial + álcool etílico ^{50%} |
| Fev | Fevereiro |
| H+Al | Hidrogênio + Alumínio |
| ha | Hectare |
| Ins | Insolação |
| Jan | Janeiro |
| K | Potássio |
| kg | Quilograma |
| m ² | Metro quadrado |
| Mai | Mai |
| Mar | Março |
| Mg | Magnésio |
| MJ | Mega joule |
| Nov | Novembro |
| P | Fósforo |
| pH | Potencial hidrogênionico |
| Tmax | Temperatura máxima |
| Tmin | Temperatura mínima |
| UR | Umidade relativa do ar |
| V% | Saturação por bases |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. Revisão de Literatura..... | 11 |
| 1.1 Importância da avaliação da anatomia de plantas forrageiras..... | 11 |
| 1.2 Referencial Bibliográfico..... | 14 |
| 2. Anatomia foliar quantitativa do capim Marandu sob influência do nitrogênio..... | 16 |
| 2.1 Introdução..... | 16 |
| 2.2 Material e Métodos | 17 |
| 2.3 Resultados e Discussão | 19 |
| 2.4 Conclusão | 25 |
| 2.5 Recomendações..... | 26 |
| 2.6 Referencial Bibliográfico | 27 |

1. Revisão de Literatura

1.1 Importância da avaliação da anatomia de plantas forrageiras

Na Botânica a análise da anatomia dos vegetais é ferramenta determinante para a caracterização e a formação de grupos taxonômicos (PELEGRIN et, al. 2009). Em seu trabalho intitulado *Anatomia de Monocotiledôneas*, Metcalfe (1960) foi pioneiro ao descrever a anatomia dos órgãos de diversas gramíneas de clima temperado e tropical. Oliveira et, al. (1973) utilizaram a anatomia foliar para descrever e agrupar 76 espécies de gramíneas tropicais pertencentes a 30 gêneros. Wilkins (1972) foi o primeiro a relacionar parâmetros anatômicos e químicos dos tecidos vegetais com o potencial digestivo de gramíneas para animais ruminantes.

Hanna et, al. (1973) avaliando a histologia de folhas de forrageiras após digestão *in vitro*, observaram taxas de digestão diferentes para os tecidos que compõe as folhas, inferindo que as bactérias ruminais digerem mais rapidamente as células do mesofilo e as do floema, depois as células epidérmicas e as células da bainha do feixe vascular, deixando intactos os tecidos do xilema e do esclerênquima, devido ao elevado grau de lignificação da parede celular das células que os constituem, o que também foi observado por Akin et, al. (1973) avaliando a degradação ruminal dos tecidos de forrageiras por meio de microscopia eletrônica de varredura.

Akin e Burdick (1975) estudaram o percentual e o tipo dos tecidos que compõe a lamina foliar de gramíneas tropicais (C4) e temperadas (C3), relacionando-os com o potencial digestivo dessas forrageiras. As espécies C4 apresentaram na lâmina foliar maior proporção de tecidos condutores, bainha dos feixes vasculares e tecido esclerenquimático. Já as espécies C3 apresentaram maior proporção de mesofilo, ocupando cerca de 60% da seção transversal da lâmina foliar, revelando que a folha da gramínea temperada é mais rapidamente digerida quando comparada à da gramínea tropical, onde este tecido representa uma menor proporção, fazendo com que os tecidos de digestão lenta e parcial, assim como os resistentes à digestão, ocupem maior área da lâmina foliar.

Wilson (1976) estudou a variação das características anatômicas com o nível de inserção da folha no perfilho e observou que lâminas foliares de mais alto nível de inserção apresentaram maior proporção de esclerênquima e xilema, além de paredes celulares mais espessas e menor quantidade de mesofilo que lâminas situadas na base do perfilhos, sugerindo maior digestibilidade nas folhas que se encontram em extratos inferiores, evidenciando a existência de um gradiente nutricional na gramínea forrageira.

Cheng et, al. (1980) estudaram a sequência de eventos que ocorrem na degradação da forragem no rúmen e relataram que os microorganismos colonizaram rapidamente as partículas que chegaram ao compartimento, sendo a maior rota de invasão ao material por meio da ruptura da epiderme, avançando então aos demais tecidos. Assim, a compreensão dos processos de degradação e digestibilidade das forragens pelo estudo da anatomia despertou grande interesse e foi intensamente investigada em diversas gramíneas com potencial de consumo pelos animais ruminantes (WILSON et, al. 1983; HATTLERSLEY et, al. 1984; AKIN (1989); WILSON et, al. 1991; AKIN et, al. 1992; GRABBER et, al. 1992).

Rodella et, al. (1982) estudaram então a proporção de tecidos em *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria decumbens*, concluindo que *B. decumbens* apresenta maior proporção de tecidos de rápida digestão, como o mesofilo e floema. Brito et, al. (1999) avaliaram a anatomia foliar e a degradação *in vitro* de três cultivares de *Pennisetum purpureum* em diferentes estádios de crescimento e relataram haver diferenças na proporção de tecidos entre os cultivares e aumento na área de tecidos lignificados com o avançar do estágio de crescimento, além de redução na degradação dos tecidos. Brito e Deschamps (2001) avaliando a anatomia de *Pennisetum purpureum* em diferentes componentes morfológicos nas porções basal, mediana e apical, relatou que é na folha onde se encontra a maior proporção de tecidos lignificados, e no colmo onde se encontra a maior área de tecido lignificado, não havendo diferenças entre as porções avaliadas.

Paciullo et, al. (2002a) estudando características anatômicas da lâmina foliar e do colmo de gramíneas forrageiras em função do nível de inserção no perfilho, da idade e da estação de crescimento, observou que a proporção de tecidos em lâminas foliares não foi alterada pela idade e nem pela estação de crescimento, sendo a espessura da parede das células do esclerênquima da lâmina foliar a única característica modificada pela idade da planta. Esse mesmo autor também observou que as lâminas foliares do nível superior apresentaram maior proporção de tecidos lignificados, enquanto as lâminas do nível de inserção inferior apresentaram maior proporção de mesofilo, como observado por Wilson et, al. (1976).

Estudando a degradação dos tecidos foliares e as correlações entre variáveis anatômicas e nutricionais em gramíneas forrageiras, Paciullo et, al. (2002b) observaram correlações positivas entre a proporção de tecidos e os componentes químicos e de digestibilidade da forragem, tendo o mesofilo, o floema, o xilema e o esclerênquima, forte correlação com a digestibilidade *in vitro* da matéria seca, e concluiu que as células do mesofilo são de completa digestão, enquanto as células do xilema e do esclerênquima são de digestão parcial e indigestíveis, respectivamente.

MacAdam et, al. (1989) estudando o efeito de doses de N (baixa= 30 kg de N ha⁻¹ e alta= 300 kg de N ha⁻¹) sobre o comprimento e o número de células do mesofilo em lamina foliares de *Festuca arundinacea*, observaram aumento de 42% no comprimento e de 66% no número de células do mesofilo. Cani (2014) trabalhando com a *Brachiaria brizantha* cv. Marandu sob doses de 0, 50, 100 e 150 kg de N ha⁻¹, obtiveram resposta linear positiva para a espessura da lamina foliar atingindo 525,15 µm na dose de 150 kg de N ha⁻¹.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) tem utilizado o estudo da anatomia de gramíneas forrageiras em seu programa de melhoramento genético, onde tem buscado relacionar caracteres anatômicos que apresentem forte correlação com o valor nutritivo das forrageiras e baixa variação fenotípica, para assim, selecionar num menor tempo de pesquisa, novos cultivares com maior potencial produtivo e nutritivo (GOMES et, al. 2011; SANTOS et, al. 2013).

Desconsiderando o viés botânico que visa muito mais a descrição e a classificação dos vegetais, a anatomia das gramíneas forrageiras foram mais bem estudadas pela abordagem zootécnica ou nutricional, onde os trabalhos disponíveis na literatura têm sempre buscado mensurar a área dos tecidos e relacionar sua proporção nos componentes morfológicos da planta à variáveis de valor nutritivo, muitas vezes, em estudos comparativos entre espécies, o que tem impedido que sejam observadas e relatadas respostas intrínsecas à modificações na estrutura anatômica de gramíneas submetidas à diversas condições de manejo, o que seria interessante para interpretação de respostas de ordem produtiva e enriquecimento da literatura.

1.2 Referencial Bibliográfico

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

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

AKIN, D.E.; AMOS, H.E.; BARTON, F.E. Rumen microbial degradation of grass tissue by scanning electronmicroscopy. **Agronomy of Journal**, v.65, n.5, p.825-828, 1973.

AKIN, D.E.; HARTLEY, R.D. UV absorption microspectrophotometry and digestibility of cell types of bermuda grass internodes at different stages of maturity. **Journal of Science Food Agriculture**, v.59, p.437-447, 1992.

BRITO, C. J. F. A.; DESCHAMPS, F.C. Caracterização Anatômica em Diferentes Frações de Cultivares de Capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.) **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, 1409-1417, 2001.

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

CANI, A. C. P. **Perfilhamento, avaliações bioquímicas e anatômicas de Brachiaria brizantha cv. Marandu sob diferentes doses de nitrogênio** (Tese de Doutorado em Zootecnia – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia) 77 p., 2014.

CHENG, K.J., FAY, J.P., HOWARTH, R.E., COSTERTON, W. Sequence of events in the digestion of fresh legume leaves by rumen bacteria. **Applied Environment Microbiology**, v.40, p.613-625, 1980.

GOMES, R. A.; LEMPP, B.; JANK, L.; CARPEJANI, G. C.; MORAIS, M. G; Características anatômicas e morfofisiológicas de lâminas foliares de genótipos de *Panicum maximum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.2, p.205-211, 2011.

GRABBER, J.H.; JUNG, G.A.; ABRAMS, S.M.; HOWARD, D. B. Digestion kinetics of parenchyma and sclerenchyma cell walls isolated from orchard grass and witch grass. **Crop Science**, v.32, p.806- 810, 1992.

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

HATTLERSLEY, P.W. Characterization of C4 type leaf anatomy in grasses (Poaceae). Mesophyll: bundle sheath are arations. **Annals of Botany**, v.53, p.13-179, 1984.

MACADAM, J. W.; VOLENEC, J.J.; NELSON, C. J. Effects of Nitrogen on Mesophyll Cell Division and Epidermal Cell Elongation in Tall Fescue Leaf Blades **Plant Physiology**, vol. 89, 1989.

METCALFE, C. R. **Anatomy of the Monocotyledons, I. Gramineae**. Oxford: Clarendon Press. 1960.

OLIVEIRA, B. A. D.; FARIA, P. R. S.; SOUTO, S. M.; CARNEIRO, A. M.; DOBEREINER, J.; ARONOVICH, S. Identificação de gramíneas tropicais com via fotossintética "c 4" pela anatomia foliar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.8, p. 267-271, 1973.

PACIULLO, D. S. C.; GOMIDE, J. A.; SILVA, E. A. M.; QUEIROZ, D. S.; GOMIDE, C. A. M. 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**, v. 31, n.2, p. 890-899, 2001a.

PACIULLO, D. S. C.; GOMIDE, J. A.; QUEIROZ, D. S.; SILVA, E. A. M. Correlações entre componentes químicos, anatômicos e digestibilidade in vitro da matéria seca de gramíneas forrageiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 957-963, 2001b.

PELEGRIN, C. M. G.; LONGHI-WAGNER, H. M.; OLIVEIRA, P.L. Anatomia foliar como subsídio à taxonomia de espécies do Complexo *Briza* L. (Poaceae: Pooideae: Poaeae) **Acta Botânica Brasília**, v.23, n.3, p.666-680, 2009.

RODELLA, R.A.; ISHIY, C.M.; MAIMONI-RODELLA, R.C.S.; AMARAL JUNIOR, A. Estudo quantitativo de características anatômicas de folhas de duas espécies de *Brachiaria*. **Revista Agrociência**, v2, n.2, 21-30, 1982.

SANTOS, F. C.; TECHIO, V. H.; FREITAS, A. S.; CASTRO, E. M.; DAVIDE, E. C.; SOBRINHO, F.S. Adaptive leaf anatomical characteristics of *Brachiaria ruziziensis* (Poaceae) genotypes in diferente environments **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 35, n. 4, p. 579-584, 2013.

WILKINS, R.J. The potential digestibility of cellulose in grasses and its relationships with chemical and anatomical parameters. **Journal of Animal Science**, v.78, n.3, p.457-464, 1972.

WILSON, J.R. Variation of leaf characteristics with level of insertion on a grass tiller. II. Anatomy. **Australian Journal Agricultural Research**, v. 27, p.355-364, 1976.

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

WILSON, J.R.; HATTERSLEY, P.W. *In vitro* digestion of bundle sheath cell in rumen fluid and its relation to the suberized lamella and C4 photosynthetic type in *Panicum* species. **Crop Science**, v.38, p.219-223, 1983.

2. Anatomia foliar quantitativa do capim Marandu sob influência do nitrogênio

2.1 Introdução

Após o pastejo o acúmulo de forragem na pastagem é resultante do balanço entre a emissão e a senescência de folhas e perfilhos, que depende de fatores essenciais como: água, luz, temperatura e nutrientes (HODGSON, 1990). O nitrogênio (N) é fundamental, por ser encontrado em todos os tecidos estruturais que compõe as organelas e diversas biomoléculas importantes para o metabolismo da célula vegetal, como a clorofila, ATP, DNA e RNA (TAIZ & ZEIGER, 2004). Assim, o suprimento adequado de N assume grande importância na produção de massa forrageira.

No Brasil o processo de acúmulo de forragem em pastagens adubadas com N vem sendo bastante investigado e os dados obtidos têm indicado uma relação de troca entre 30 e 60 kg de matéria seca de forragem para cada 1 kg de N aplicado (FAGUNDES et, al. 2005; MAGALHÃES et, al. 2007; CASTAGNARA et, al. 2011), sendo o perfilhamento, o número de folhas vivas, o comprimento e o tempo para o surgimento de novas folhas, as variáveis mais relacionadas com o incremento na produção forrageira (MARTUSCELLO et, al. 2006; CORREA et, al. 2007; MELLO et, al. 2008; SILVA et, al. 2009; ALEXANDRINO et, al. 2010; GIMENES et, al. 2011; CABRAL et, al. 2012).

Apesar do grande volume de informações disponível na literatura sobre o desdobramento do crescimento de plantas forrageiras adubadas com N, poucos são os trabalhos que abordam a investigação da sua anatomia, o que poderia favorecer a melhor compreensão de respostas produtivas. Assim, objetivou-se com este trabalho analisar a anatomia foliar do capim Marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) submetido à doses de N.

2.2 Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido na Universidade Federal do Tocantins, Campus Universitário de Araguaína - Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia – em área pertencente ao Campo Agrostológico. O clima da região segundo a classificação de Koppen (1928) é do tipo Aw (tropical – quente e úmido) com médias para temperatura máxima e mínima de 40°C e 18°C, respectivamente. A precipitação pluvial chega a 1800 mm ano⁻¹ e a umidade relativa do ar tem média anual de 76%. O número de horas de insolação tem média anual de 6,5 horas diárias (INMET, 2014) e a irradiância solar tem média de 18 MJ m². dia⁻¹(CEPEL, 2010).

Os dados de precipitação pluvial e irradiância solar durante o período experimental encontram-se na Figura 1 e os dados de temperatura máxima, temperatura mínima e umidade relativa do ar encontram-se na Tabela 1.

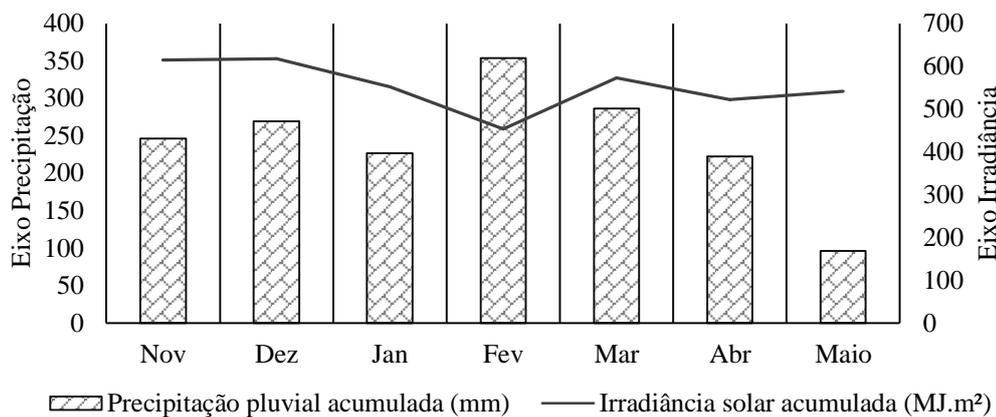


Figura 1. Dados de precipitação pluvial e irradiância solar durante o período experimental. (Fonte: INMET, Estação Agrometeorológica de Araguaína – TO)

Tabela 1. Temperatura máxima (Tmax), Temperatura mínima (Tmin) e Umidade relativa do ar (UR) durante o período experimental. (Fonte: INMET, Estação Agrometeorológica de Araguaína – TO)

| Meses | Tmax (°C) | Tmin (°C) | UR (%) |
|-------|-----------|-----------|--------|
| Nov | 30,99 | 21,34 | 85,87 |
| Dez | 31,10 | 21,87 | 86,48 |
| Jan | 30,56 | 21,29 | 86,44 |
| Fev | 30,23 | 21,70 | 88,33 |
| Mar | 30,88 | 21,85 | 87,94 |
| Abr | 31,13 | 21,85 | 87,31 |
| Mai | 32,49 | 21,26 | 81,93 |

Foi utilizada uma área de capim Marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) implantada em outubro de 2012, a qual estava sendo manejada sob corte, onde foram alocadas

em novembro de 2013, vinte parcelas com dimensão de 4x4 m (16 m²). O solo da área foi classificado como Neossolo Quartzarênico Órtico típico, cujo a análise química inicial na camada de 0-20 cm revelou as seguintes características: pH em CaCl₂= 6,23; matéria orgânica= 31,62 g kg⁻¹; P= 7,82 mg dm⁻³; K= 0,16 cmolc dm⁻³; Ca= 2,03 cmolc dm⁻³; Mg= 0,74 cmolc dm⁻³; Al= 0,31 cmolc dm⁻³; H+Al = 4,86 cmolc dm⁻³; V= 37,16 %.

Para o início do experimento foi realizado um corte de uniformização na forrageira e posteriormente uma adubação com 100 kg de N ha⁻¹, 80 kg de P₂O₅ ha⁻¹ e 90 kg de K₂O ha⁻¹, utilizando-se ureia, superfosfato simples e cloreto de potássio, respectivamente. Após 28 dias de crescimento livre, realizou-se outro corte de uniformização e em seguida, foram aplicados os tratamentos. Cinco doses de N (0; 25; 50; 75 e 100 kg ha⁻¹) foram distribuídas num delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições. A adubação foi feita com ureia e aplicada por período de crescimento, que foi pré-determinado em 28 dias. Portanto, a cada 28 dias a dose correspondente a cada tratamento era aplicada dois dias após o corte de uniformização da forrageira. Foram realizados 5 cortes, totalizando 140 dias de experimento.

Para avaliação das características anatômicas, no último corte avaliativo foram coletados perfílios basais representativos em cada unidade experimental, sendo identificados e imediatamente levados ao laboratório para retirada de fragmentos de aproximadamente 3 cm na região central da última lâmina foliar completamente expandida. Em tempo hábil, os fragmentos foram colocados em cassetes histológicos e imersos em um becker com solução de FAA^{50%} (formaldeído + ácido acético glacial + álcool etílico^{50%} - seguindo a relação percentual respectiva de 5:5:90) durante 48 horas para fixação dos tecidos, conforme descrito por Johansen (1940).

Na procedência os fragmentos foram desidratados em série de concentração etílica ascendente (70; 75; 80; 85; 90; 95; 99%), passando trinta minutos em cada etapa. Em seguida, os cassetes foram retirados e secos com subsequente imersão em xilol (dimetil benzeno) para o clareamento das amostras em duas etapas, com duração de 20 minutos cada. Feito isso, efetuou-se o emblocamento em parafina, utilizando-se um dispensador à temperatura de 80°C usando-se formas confeccionadas com papel sulfite.

Os fragmentos emblocados foram seccionados transversalmente na espessura de 5 µm, com uso de um micrótomo rotativo manual. As secções obtidas foram distendidas em água para manipulação e fixação nas lâminas e, assim foram novamente submetidas a série etílica e então secas em estufa a 40°C. Feito isso, efetuou-se a coloração das amostras com imersão em azul de toluidina por quinze minutos (O'BRIEN et, al. 1964). Uma vez efetuada a coloração, as lâminas foram lavadas em água corrente e destinadas à observação, sendo que

para obtenção das imagens digitalizadas das lâminas, foi utilizado um microscópio com câmera acoplada a um microcomputador, empregando-se a objetiva de 40x para o registro.

Na secção da lâmina foliar foram determinadas as seguintes características: espessura da lâmina foliar (ELF), espessura da epiderme adaxial (EED), espessura da epiderme abaxial (EEB), distância entre feixes vasculares (DFV), diâmetro do metafloema (DFL), diâmetro do metaxilema (DXL), espessura do mesofilo (EME), percentagem de células buliformes (%CBU), percentagem da bainha do feixe vascular (%BFV) e percentagem de esclerênquima (%ESC). Para as medidas e estimativa da proporção de cada tecido nas lâminas foliares, utilizou-se o software específico para análise de imagens histológicas Motic[®] Image Plus 2.0^{ML}.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste F por meio do software Assistat 7.7, considerando significância $\leq 0,05\%$. Na constatação da significância, foram aplicados os modelos polinomiais adequados para as equações de regressão, utilizando-se o software SigmaPlot[®] 10.0 para a plotagem dos gráficos.

2.3 Resultados e Discussão

A espessura da lamina foliar (ELF – Figura 2a) do capim Marandu apresentou resposta linear ($p < 0,01$) com o aumento na dose de N, atingindo 520,86 μm na dose de 100 kg ha^{-1} , valor muito semelhante ao obtido por Cani (2014) que trabalhando com a mesma cultivar sob doses de 0, 50, 100 e 150 kg de N ha^{-1} , também obtiveram resposta linear para a ELF, com valor de 525,15 μm na dose de 150 kg de N ha^{-1} .

Para Goulet e Bellefleur (1986) devido a capacidade plástica das plantas, as folhas naturalmente respondem à maior disponibilidade de água, luz e nutrientes, alterando sua área e espessura. O espessamento foliar modifica a trajetória da radiação solar incidente, sendo a refletância maior em folhas mais espessas e a transmitância maior em folhas com menor espessura (PONZONI e DISPERATI, 1995). Segundo Meziane e Shipley (1999), a modificação na espessura foliar é decorrente de alterações na espessura da epiderme, na espessura do mesofilo e no calibre dos feixes vasculares.

A distância entre feixes vasculares (DFV – Figura 2b) não foi alterada com as doses de N ($p > 0,05$), registrando-se o valor médio de 218,22 μm , valor muito próximo ao observado por Brito et. al. (2004) descrevendo a mesma cultivar, onde a média obtida foi de 184,68 μm . Estes autores relatam que a disposição paralela dos feixes vasculares nas folhas da gramíneas conferem elevada resistência física à lamina foliar e, portanto, quanto maior o número de feixes e menor a distância entre eles, maior tensão de ruptura deve ser empregada no momento da

apreensão dessas folhas pelos animais em pastejo. A menor distância entre feixes vasculares também está relacionada à maior vascularização das folhas, com consequente aumento da capacidade de transporte de água, nutrientes minerais e fotoassimilados (FERREIRA et. al. 2007).

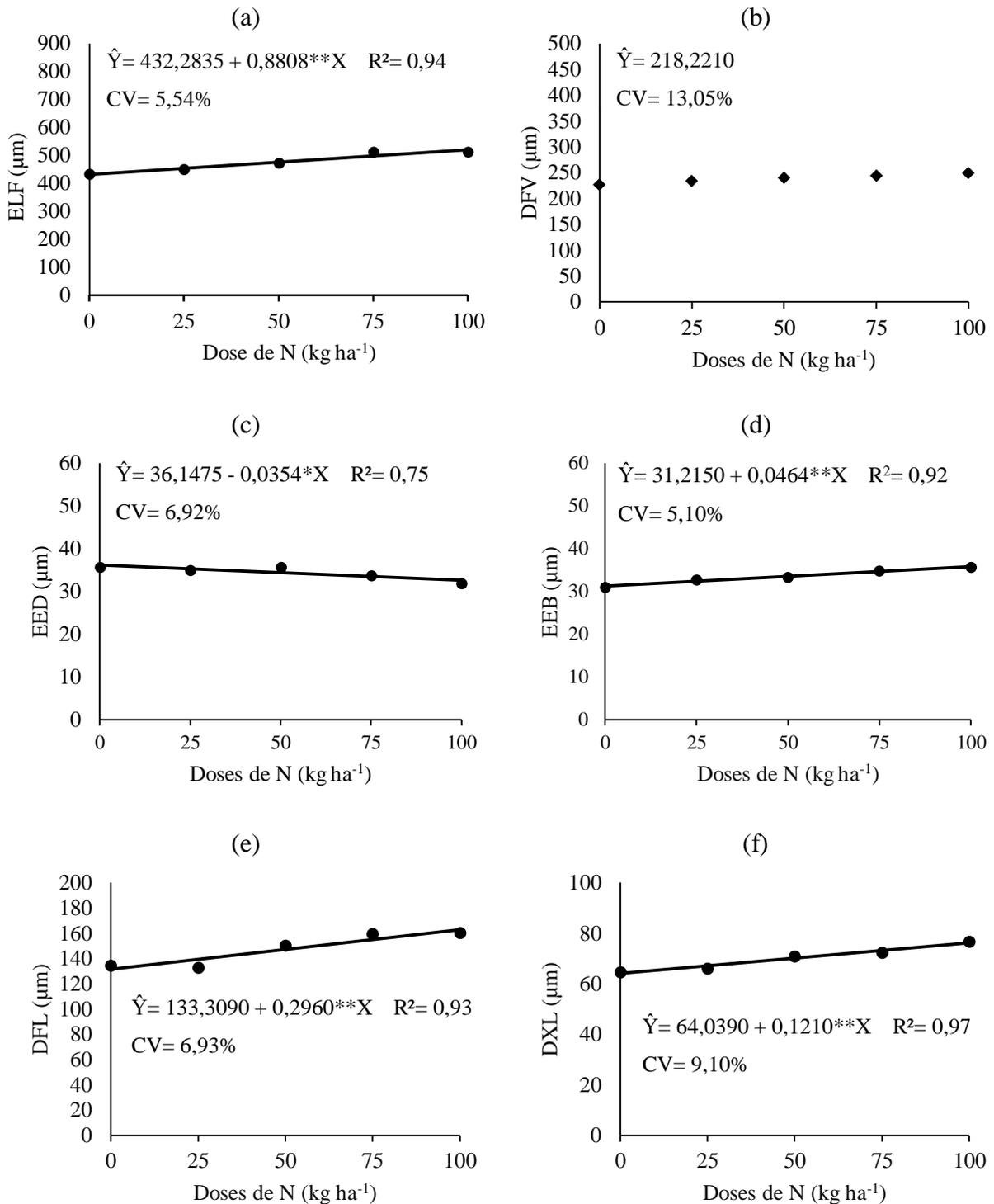


Figura 2. Espessura da lâmina foliar (ELF), distância entre feixes vasculares (DFV), espessura da epiderme adaxial (EED), espessura da epiderme abaxial (EEB), diâmetro do metafloema (DFL) e diâmetro do xilema (DXL) de folhas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetida às doses de nitrogênio. * = significativo a 5% e ** = significativo a 1%.

A espessura da epiderme adaxial (EED – Figura 2c) apresentou resposta linear negativa ($p < 0,05$) com o aumento na dose de N, quando o inverso foi observado para a espessura da epiderme abaxial (EEB – Figura 2d), que apresentou resposta linear positiva ($p < 0,01$). O decréscimo na EED foi de aproximadamente 10%, atingindo 32,60 μm , enquanto o acréscimo na EEB foi em torno de 13%, atingindo 35,85 μm . Basso et, al. (2014) trabalhando com *Panicum maximum* cultivar Milênio sob doses de 0, 150, 300 e 450 kg de N ha^{-1} , verificaram redução linear na proporção do tecido epidérmico na face adaxial foliar, o que remete semelhança ao observado no presente trabalho.

A redução na EED e o aumento na EEB com a elevação na dose de N, possivelmente podem estar relacionados a estratégia da planta para o melhor aproveitamento da radiação solar incidente, possibilitando que mais luz ultrapasse a epiderme adaxial das folhas e chegue até o mesofilo (tecido fotossintetizante), penetrando nas camadas de células mais profundas e alargando assim a capacidade fotossintética da planta, visto que o N provavelmente pode ter elevado o teor de clorofila foliar, conforme verificado por Lavres Júnior et, al., (2006) trabalhando com capim Marandu sob doses de N.

Do ponto de vista nutricional, o espessamento da epiderme é indesejável para os animais ruminantes, pois a cutícula, assim como as células epidérmicas, funcionam como barreira de impedimento ao processo digestivo, dificultando o acesso dos microrganismos do rúmen aos demais tecidos de maior digestibilidade, que estão localizados abaixo da camada epidérmica, causando aumento no tempo de retenção do material no rúmen, reduzindo a taxa de passagem, o consumo e o aproveitamento da forragem ingerida, o que afeta negativamente o desempenho dos animais em pastejo (WILSON e HATTERSLEY, 1983).

O diâmetro do metafloema (DFL – Figura 2e) e o diâmetro do xilema (DXL – Figura 2f) apresentaram respostas semelhantes, com aumento linear positivo ($p < 0,01$) conforme aumentou-se a dose de N. O incremento obtido no DFL (+20%) e no DXL (+16%), de acordo com a função específica de cada tecido, certamente está associado à maior produção e condutância de seiva orgânica (fotoassimilados) e de seiva inorgânica (água e minerais), respectivamente (TAIZ e ZAIGER, 2004), demandando maior calibre a esses vasos para atender a nova condição fisiológica da planta, que dispõem de maior volume de substrato quando mais adubada, o que evidencia a possibilidade de crescimento mais acelerado e maior desenvolvimento. É relevante destacar que o DFL mensurado foi 2,6 vezes maior que o DXL.

O tecido que compõe o metafloema é considerado de rápida digestão, sendo o aumento de sua participação na folha, nutricionalmente desejável, enquanto o contrário é considerado para o xilema, que é considerado indigestível (AKIN et, al. 1975), isso pois o xilema é um tecido formado por diferentes tipo celulares, mas que apresentam um arranjo compacto, paredes celulares espessadas, altamente lignificadas e rígidas, o que dá impermeabilidade e permite o transporte de água e solutos, e também confere ao xilema a função de sustentação dos órgãos vegetais (GLÓRIA e GUERREIRO, 2006).

A espessura do mesofilo (EME – Figura 3a) apresentou resposta linear ($p < 0,05$) com o aumento na dose de N, atingindo 107,50 μm na dose de 100 kg ha^{-1} , sendo o incremento total observado de 22%, o que justifica o aumento de 17% observado na ELF (Figura 2a).

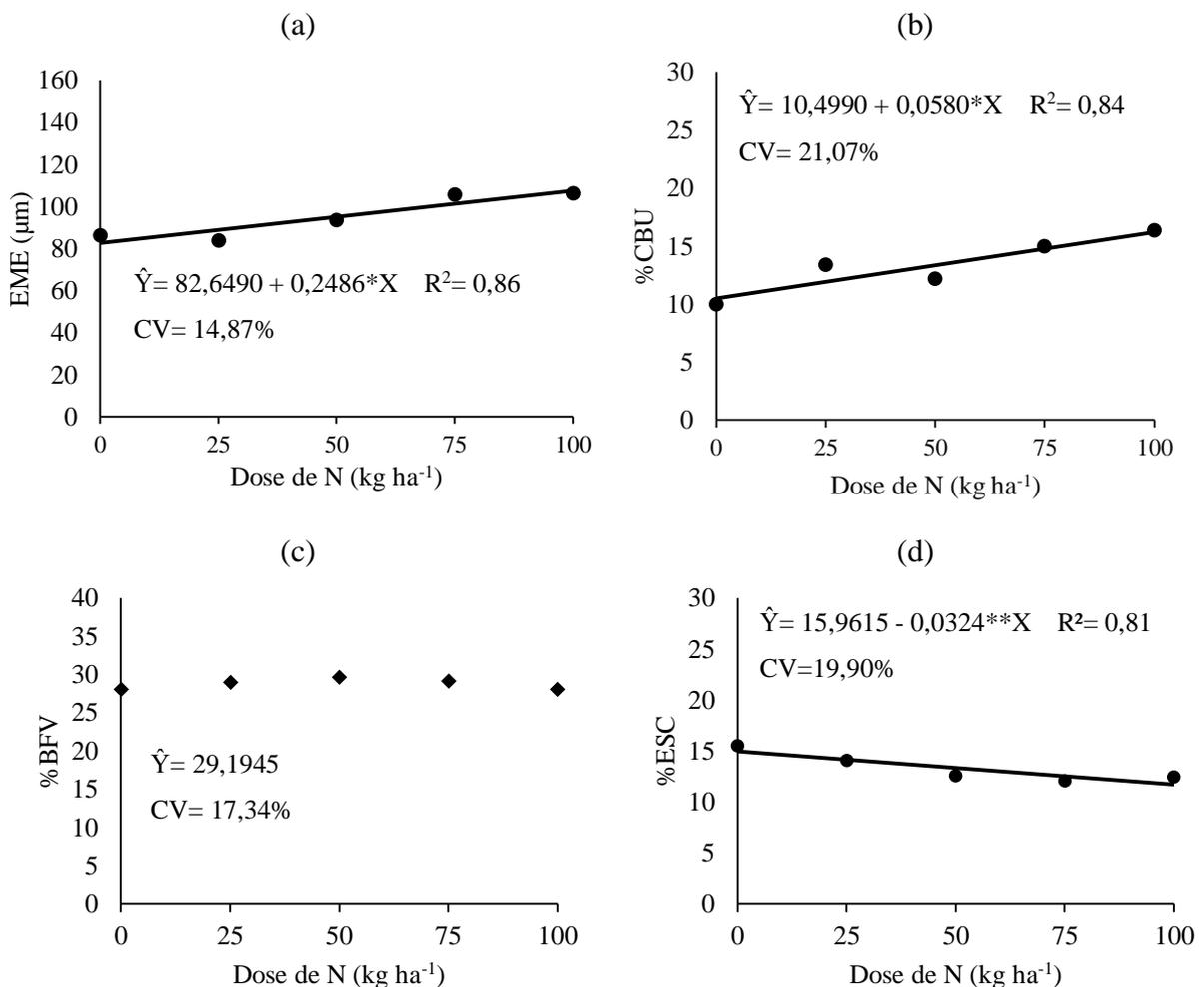


Figura 3. Espessura do mesofilo (EME), percentagem de células buliformes (%CB), percentagem da bainha parenquimática do feixe (%BFV) e percentagem de esclerênquima (%ESC) em folhas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetida à doses de nitrogênio. *=significativo a 5% e **=significativo a 1%.

Basso et, al. (2014) trabalhando com *Panicum maximum* cultivar Milênio sob doses de 0, 150, 300 e 450 kg de N ha⁻¹, relataram resposta linear para o percentual de mesofilo na lamina foliar, com valor máximo de 41% para a maior dose testada, sendo o incremento observado de 14%. Já Piotto et, al. (2012) avaliando *Panicum maximum* cultivar Mombaça sob doses de 0, 200, 400, 600 e 800 kg de N ha⁻¹ também observaram resposta linear para o percentual de mesofilo, com valor de máximo 43% na maior dose testada, sendo o incremento de 11%.

MacAdam et, al. (1988) estudando o efeito de doses de N (baixa= 30 kg de N ha⁻¹ e alta= 300 kg de N ha⁻¹) sobre o comprimento e o número de células do mesofilo em lamina foliares de *Festuca arundinacea*, observaram aumento de 42% no comprimento e de 66% no número de células do mesofilo, o que explica como ocorre o incremento deste tecido com a adubação nitrogenada. As células do mesofilo possuem cloroplastos em abundancia, onde se encontram os pigmentos de clorofila responsáveis pela transformação da energia luminosa proveniente dos sol na energia química necessária para a síntese de metabolitos, como a sacarose e o amido (TAIZ e ZAIGER, 2004). Assim o aumento na área do mesofilo com a adubação nitrogenada em plantas forrageiras, junto ao aumento no teor de clorofilas que também tem sido reportado (LAVRES JÚNIOR et, al. 2006; LAVRES JÚNIOR et, al. 2008) constituem-se em grandes evidências do alargamento da capacidade fotossintética da planta à nível de estrutura foliar.

A porcentagem de células buliformes (%CBU – Figura 3b) respondeu linearmente ($p < 0,05$) ao aumento na dose de N, saindo de cerca de 11% na dose controle para o valor máximo de 16% na dose de 100 kg de N ha⁻¹, valor bem superior ao observado por Brito et, al. (2004), descrevendo a mesma cultivar, onde o valor médio relatado foi de 9%. Observa-se, então, que a dose controle apresentou valor muito próximo ao descrito na literatura, evidenciando que o N exerce forte influência na síntese de células buliformes, as quais são responsáveis pela função motora de enrolamento e desenrolamento da folha durante e após situações de déficit hídrico (VANNUCCI e REZENDE, 2003).

A porcentagem da bainha do feixe vascular (%BFV – Figura 3c) não foi influenciada ($p > 0,05$) com o aumento na dose de N, registrando-se o valor médio de 29% para a participação deste tecido. Segundo Dengler et, al. (1994) a BFV (Anatomia Kranz) é fundamental no processo fotossintético destas espécies, pois suas células contêm a enzima Rubisco (ribulose-bisfosfato carboxilase oxigenase) que é responsável pela descarboxilação do CO₂ oriundo do mesofilo e a entrada do C no ciclo de Calvin-Benson, o que explica a participação expressiva deste tecido na lamina foliar. Para Gomes et, al. (2011) a BFV possui

elevado teor de amido e proteínas, sendo um importante tecido contribuinte no valor nutritivo de folhas das forrageiras C4, embora, Akin et, al. (1975) tenha observado que sua digestão é parcial.

A percentagem de esclerênquima (%ESC – Figura 3d) apresentou resposta linear negativa ($p < 0,01$) com o aumento na dose de N, partindo de 15% na dose controle até o valor de 12% na dose de 100 kg de N ha⁻¹, uma redução de cerca de 3% que pode estar atribuída a magnitude do aumento na área dos tecidos fotossintetizantes, reduzindo em proporção a participação do esclerênquima, que tem a função estrutural de dar sustentação e proteção contra danos físicos à folha, conforme relatado por Metcalfe (1960).

Basso et, al. (2014) testando doses de 0, 150, 300 e 400 kg de N ha⁻¹ em *Panicum maximum* cultivar Milênio, também observaram ligeira redução na %ESC, passando de 2,5% para 1,5%. Lajús et, al. (2014) trabalhando com *Axonopus jesuiticus* sob doses de 0, 100, 200, 300 e 400 kg de N ha⁻¹, observaram redução na %ESC da ordem de 25% para 15%, o que sugere uma melhoria na digestibilidade das forrageiras quando adubadas com N, visto que o tecido esclerenquimático é considerado indigestível (HANNA et, al. 1973; AKIN et, al. 1975).

Comparando a anatomia foliar de 10 espécies de gramíneas forrageiras, Heinzen et, al. (2002) observaram grande variação na %ESC, reportando valores de 1,5% até 15,6%. Bauer et, al. (2008) estudando quatro gramíneas relatou valores de 1,5% até 6,8%. Paciullo et al., (2002) estudando três gramíneas observaram variação na %ESC de 2,1% até 6,3% e também relatou a variação com o nível de inserção da folha no perfilho e com o avançar da idade de crescimento, devido a deposição lignina na parede celular das células deste tecido, o que demonstra a importância do manejo do pastejo para obtenção de forragem de melhor valor nutritivo.

2.4 Conclusão

A adubação nitrogenada provoca alteração na espessura da epiderme, espessura do mesofilo, diâmetro dos vasos condutores e na proporção de células buliformes e esclerênquima das folhas de capim Marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu), o que revela uma estratégia de adaptação à condição de maior disponibilidade de substrato para o crescimento.

2.5 Recomendações

A anatomia de gramíneas forrageiras sob diversas condições de manejo ainda é pouco estudada. Ainda não há na literatura trabalhos que relacionem a morfogênese, a estrutura e o crescimento das forrageiras com a anatomia, o que pode favorecer a compreensão de muitas respostas obtidas, além enriquecer a literatura em forragicultura.

2.6 Referencial Bibliográfico

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

ALEXANDRINO, E.; VAZ, R. G. M. V.; SANTOS, A. C. Características da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu durante o seu estabelecimento submetida a diferentes doses de nitrogênio. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 6, p. 886-893, 2010.

BASSO, K. C.; CECATO, U.; BARBERO, L. M.; LEMPP, B.; GOMES, J. A. N.; LUGÃO, S. M. B. Influence of nitrogen levels on leaf anatomy and nutritive value of millennium grass. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, p.792-802, 2014.

BAUER, M. O.; GOMIDE, J. A.; SILVA, E. A. M.; REGAZZI, A. J.; CHICHORRO, J. F. Características Anatômicas e Valor Nutritivo de Quatro Gramíneas Predominantes em Pastagem Natural de Viçosa-MG. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 9-17, 2008.

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**, v.33, n.3, p.519-528, 2004.

CABRAL, W. B.; SOUZA, A. L.; ALEXANDRINO, E.; TORAL, F. L. B.; SANTOS, J. N.; CARVALHO, M. V. P. Características estruturais e agrônômicas da *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés submetida a doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia** v.41, n.4, p.846-855, 2012

CANI, A. C. P. **Perfilhamento, avaliações bioquímicas e anatômicas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu sob diferentes doses de nitrogênio** (Tese de Doutorado em Zootecnia – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia) 77 p., 2014.

CASTAGNARA, D. D.; ZOZ, T.; KRUTZMANN, A.; UHLEIN, A.; MESQUITA, E. E.; NERES, M. A.; OLIVEIRA, P. S. R. Produção de forragem, características estruturais e eficiência de utilização do nitrogênio em forrageiras tropicais sob adubação nitrogenada. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1637-1648, 2011.

CORREA, L. A.; CANTARELLA, H; PRIMAVESI, A. C.; PRIMAVESI, O.; FREITAS, A. R.; SILVA, A. G. Fontes e doses de nitrogênio na produção e qualidade da forragem de Capim-Coastcross (*Cynodondactylon*) (L.) Pers. cv. Coastcross). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 763-772, 2007.

CEPEL - CENTRO DE PESQUISA DE ENERGIA ELÉTRICA. Atlas Solarimétrico do Brasil 2010.

DENGLER, N.G.; DENGLER, R.E.; DONNELLY, P.M. Quantitative leaf anatomy of C3 and C4 grasses (Poaceae): bundle sheath and mesophyll surface area relationships. **Annals of Botany**, v.73, p.241-255, 1994.

DIAS-FILHO, M.B.; ANDRADE, C.M.S. Pastagens no ecossistema do trópico úmido. **In: SIMPÓSIO SOBRE PASTAGENS NOS ECOSSISTEMAS BRASILEIROS. Anais da SBZ**, Goiânia – GO, p. 95-104, 2005.

EUCLIDES, V. P. B.; MACEDO, M. C. M.; VALLE, C. B.; BARBOSA, R. A.; GONÇALVES, W. V. Produção de forragem e características da estrutura do dossel de cultivares de *Brachiaria brizantha* sob pastejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.12, p.1805-1812, 2008.

FAGUNDES, J. L.; FONSECA, D. M.; GOMIDE, J. A.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; VITOR, C. M. T.; MORAIS, R. V.; MISTURA, C.; REIS, G. C.; MARTUSCELLO, J. A. Acúmulo de forragem em pastos de *Brachiaria decumbens* adubados com nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.4, p.397-403, 2005.

FERREIRA, E. A. VENTRELLA, M.C.; SANTOS, J.B.; BARBOSA, M.H.P.; SILVA, A.A.; PROCÓPIO, S.O.; SILVA, E.A.M. Anatomia quantitativa da lâmina foliar de genótipos de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v. 25, n. 1, p. 25-34, 2007.

FERREIRA, S. F.; MALAFAIA, P. A.M.; CLIPES, R. C.; ALMEIDA, J. C. C.; Suplementação de novilhos Red Angus x Nelore criados em pastagem tropical durante a época chuvosa. **Ciência Animal Brasileira**, v. 13, n. 1, p. 15-23, 2012.

GIMENES, F. M. A.; DA SILVA, S. C.; FIALHO, C. A.; GOMES, M. B.; BERNDT, A.; GERDES, L.; COLAZZA, M. T. Ganho de peso e produtividade animal em capim-marandu sob pastejo rotativo e adubação nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.7, p.751-759, 2011.

GLÓRIA, B. A.; GUERREIRO, S. M. C. **Anatomia Vegetal**, 2ª Edição, Editora UFV, 438 p., 2006.

GOMES, R. A.; LEMPP, B.; JANK, L.; CARPEJANI, G. C.; MORAIS, M. G; Características anatômicas e morfofisiológicas de lâminas foliares de genótipos de *Panicum maximum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.2, p.205-211, 2011

GOULET, F.; BELLEFLEUR, P. Leaf morphology plasticity in response to light environment in deciduous tree species and its implication on forest succession. **Journal Forest Research**, v. 16, p. 1192-1195, 1986.

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

HEINZEN, F.; RAMOS, J.; TIVANO, J. C. Anatomía cuantitativa comparada de algunas especies de gramíneas de la provincia de Santa – Fé. **Revista FAVE – Ciencias Agrarias**, v. 11 n. 2, 2002.

HODGSON, J. **Grazing management: Science into Practice**. United Kingdom: Longman Scientific and Technical, Longman Group, 203 p, 1990.

LAJÚS, C. R.; MIRANDA, M.; BASSO, S. M. S.; CARNEIRO, C. M.; ESCOSTEGUY, P. A. V. Leaf tissues proportion and chemical composition of *Axonopus jesuiticus* x a. *Scoparius* as a function of pig slurry application. **Ciência Rural**, v. 44, p. 276-282, 2014.

LAVRES JUNIOR, J.; MONTEIRO, F. A. Diagnose nutricional de nitrogênio no capim-Aruana em condições controladas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n.5, p. 829-837, 2006.

LAVRES JUNIOR, J.; MONTEIRO, F. A.; SCHIAVUZZO, P. F. Concentração de enxofre, valor SPAD e produção do capim-Marandu em resposta ao enxofre. **Agrária**, v. 3, p. 225-231, 2008.

INMET – INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=home/page&page=rede_estacoes_auto_graf>

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique.** New York: McGraw-Hill Book Co. Inc., 423p. 1940.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der Erde.** Gotha: Verlag Justus Perthes. Wall-map 150cmx200cm. 1928.

MACADAM, J. W.; VOLENEC, J.J.; NELSON, C. J. Effects of Nitrogen on Mesophyll Cell Division and Epidermal Cell Elongation in Tall Fescue Leaf Blades **Plant Physiology**, vol. 89, 1989.

MAGALHÃES, J.A.; CARNEIRO, M.S. S.; ANDRADE, A.C.; PEREIRA, E.S.; SOUTO, J.S.; PINTO, M.S. C.; RODRIGUES, B.H.N.; COSTA, N. L.; MOCHEL FILHO, W. J. E. Eficiência do nitrogênio, produtividade e composição do capim-andropogon sob irrigação e adubação. **Archivos de Zootecnia** v. 61 n.236, p.577-588, 2007.

MARTUSCELLO, J. A.; FONSECA, D. M.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; SANTOS, P. M.; CUNHA, D. N. F. V.; MOREIRA, L. M. Características morfogênicas e estruturais de capim-massai submetido a adubação nitrogenada e desfolhação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.665-671, 2006.

MELLO, S. Q. S.; FRANÇA, A. F. S.; LANNA, A. C.; BERGAMASCHINE, A. F.; KLIMANN, H. J.; RIOS, L. C.; SOARES, T V. Adubação nitrogenada em capim-mombaça: produção, eficiência de conversão e recuperação aparente do nitrogênio. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 935-947, 2008.

METCALFE, C. R. **Anatomy of the Monocotyledons, I. Gramineae.** Oxford: Clarendon Press. 1960.

MEZIANE, D.; SHIPLEY, B. Interacting determinants of specific leaf area in 22 herbaceous species: effects of irradiance and nutrient availability. **Plant Cell Environmental**, v. 22, n. 5, p. 447-459, 1999.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; McCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cellular wall by toluidine blue. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373, 1964.

PACIULLO, D. S. C.; GOMIDE, J. A.; SILVA, E. A. M.; QUEIROZ, D. S.; GOMIDE, C. A. M. 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**, v. 31, n.2, p. 890-899, 2001.

PIOTTO, V. C. **Perfilhamento e Anatomia foliar do capim-monbaça adubado com nitrogênio e irrigado sob pastejo.** (Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Universidade Estadual de Maringá) 76 p., 2012.

PONZONI, F.J.; DISPERATI, A.A. **Comportamento espectral da vegetação.** INPE, 1995.

SILVA, C. C. F.; BONOMO, P.; PIRES, A. J. V.; MARANHÃO, C. M. A.; PATÊS, N. M. S.; SANTOS, L. C. Características morfogênicas e estruturais de duas espécies de braquiária adubadas com diferentes doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.4, p.657-661, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 3ª Edição Porto Alegre: Artmed, 719 p, 2004.

VANNUCCI, A. L.; REZENDE, M. H. **Anatomia Vegetal.** Edição do Autores, Goiânia – GO, 190 p., 2003.

WILSON, J.R.; HATTERSLEY, P.W. *In vitro* digestion of bundle sheath cell in rumen fluid and its relation to the suberized lamella and C4 photosynthetic type in *Panicum* species. **Crop Science**, v.38, p.219-223, 1983.