

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

**VARIABILIDADE GENÉTICA E CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA,
PRODUTIVA E QUALITATIVA DE ACESSOS DE *Desmanthus* spp.**

**ILDJA VIVIANE DE QUEIROZ
- ZOOTECNISTA -**

RECIFE - PE
FEVEREIRO/2016

ILDJA VIVIANE DE QUEIROZ

Variabilidade genética e caracterização morfológica, produtiva e qualitativa de acessos de *Desmanthus* spp.

Tese apresentada ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia (PDIZ), formado pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e Universidade Federal do Ceará (UFC), como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Comitê de orientação: Prof^a Mércia Virginia Ferreira dos Santos, D.Sc.
Prof^o José Carlos Batista Dubeux Júnior, Ph.D
Prof^o James Pierre Muir, Ph.D

RECIFE - PE
FEVEREIRO/2016

Ficha catalográfica

Q3v Queiroz, Ildja Viviane de
Variabilidade genética e caracterização morfológica, produtiva e
qualitativa de acessos de *Desmanthus* spp. / Ildja
Viviane de Queiroz. – Recife, 2016.
167 f. : il.

Orientadora: Mércia Virginia Ferreira dos Santos.
Tese (Doutorado Integrado em Zootecnia) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco / Universidade Federal da Paraíba /
Universidade Federal do Ceará. Departamento de Zootecnia da
UFRPE, Recife, 2016.

Inclui apêndice(s) e referências.

1. Diversidade genética 2. Estresse hídrico 3. Leguminosas
nativas 4. Recurso genético 5. Valor nutritivo I. Santos, Mércia
Virginia Ferreira dos, orientadora II. Título

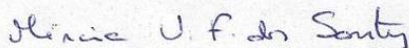
CDD 636

ILDJA VIVIANE DE QUEIROZ

Variabilidade genética e caracterização morfológica, produtiva e qualitativa de acessos de *Desmanthus* spp.

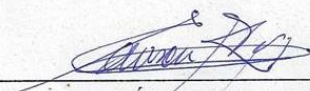
Tese defendida e aprovada pela Comissão Examinadora em 26 de Fevereiro de 2016

Orientadora:

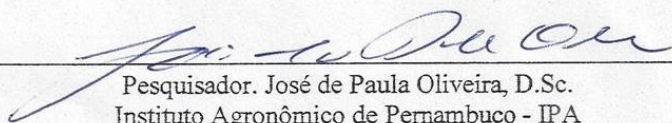


Profª Mécia Virginia Ferreira dos Santos, D.Sc.
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Departamento de Zootecnia/DZ

Comissão examinadora:



Prof. Éderson Akio Kido, D.Sc.
Universidade Federal de Pernambuco
Departamento de Genética Molecular-UFPE



Pesquisador. José de Paula Oliveira, D.Sc.
Instituto Agrônômico de Pernambuco - IPA



Prof. Mário de Andrade Lira, Ph.D.
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Departamento de Zootecnia/DZ



Prof. Vicente Teixeira Imbroisi, D.Sc.
Universidade Federal Rural de Pernambuco
UAST-UFRPE

RECIFE – PE
FEVEREIRO/2016

BIOGRAFIA DO AUTOR

ILDJA VIVIANE DE QUEIROZ - natural de Chã Grande-PE, nascida no dia 29 de Agosto de 1983, filha de Ivaldo Lourenço de Queiroz e Vandilma Maria da Silva Queiroz. Concluiu o ensino médio no Colégio Futuro em Gravatá-PE, em 2001. Graduou-se em Zootecnia Bacharelado na Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, em 2010. Neste ano, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, tendo concluído o curso em Fevereiro de 2012. Em Março de 2012 ingressou no Sub Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia pela UFRPE, na área de Concentração em Forragicultura e concluiu o curso em Fevereiro de 2016.

Aos meus pais **Ivaldo Lourenço de Queiroz** e **Vandilma Maria da Silva Queiroz**, pelo legado amor, verdade, compreensão, trabalho e transmissão dos primeiros ensinamentos de ética, de moral e dos primeiros passos para a vida, em cujos princípios sedimentei o meu modo de ser e de viver.

DEDICO

A meus irmãos **Ildjane Viviane de Queiroz** e **Irvson Ivaldo de Queiroz**, por todo apoio e incentivo para realização desta etapa.

A toda **minha família**, em especial aos meus tios, avós, primos, pela força, apoio e incentivo.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Ao meu **Deus**, meu amigo fiel, pai, irmão, protetor, refúgio, fortaleza, pela fidelidade, bênçãos, alegrias, desafios, força, perseverança para superar os obstáculos, pelos amigos, pelas pessoas que fazem parte da minha vida. Por tudo o que Ele fez, faz e fará em minha vida.

A **UFRPE**, em especial ao **Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFRPE, em especial **Prof^a. Dra. Mércia Virginia Ferreira dos Santos**, orientadora, pela dedicação, estímulos, confiança, disponibilidade, apoio, compreensão, conselhos, conhecimentos adquiridos no decorrer dessa jornada, pela oportunidade de realização de pesquisas. Muito obrigada!

Aos meus co-orientadores, **Prof. Dr. José Carlos Batista Dubeux Júnior** e **James Pierre Muir**, pela disponibilidade, confiança, contribuições valiosas, paciência e ensinamentos durante todo o percurso do doutorado.

Aos colegas de equipe do Projeto Leguminosas Forrageiras, professores **Alexandre Mello, Márcio Cunha, Mário Lira, Mário Lira Júnior** e **Vicente Imbroisi**, pelos ensinamentos, disponibilidade, contribuições e atenção. Assim como **Adeneide Cândido, Rerisson Cipriano, Gabriela Pinheiro, Williane Patricia, Carol Lira, Tony, Hiran, Marta, Gabriela Becker, Raquel, Darci** e **Augusto**.

A **Unidade Acadêmica de Serra Talhada e Estação Experimental de Cana-de-açúcar da Universidade Federal Rural de Pernambuco**, no Município de Carpina - PE, pelo apoio e ajuda nas pesquisas.

Aos **professores e funcionários do Departamento de Zootecnia e demais Departamentos**, em especial aos professores **Rinaldo Caraciollo, Egídio Bezerra, Éderson Kido**, pelo apoio, disponibilidade, contribuições e ensinamentos.

Aos meus amigos da pós-graduação e graduação que criei laços de amizade, contribuindo para o meu crescimento profissional e pessoal: **Janete Moura, Valéria Xavier, Felipe Saraiva, Sharleny Braz, Osniel, Eduardo Bruno (in memorian), Nalígia, Karina, Suellen, João Tiago, Janerson, Gilka, Meiry, Talita, Taíze, Hugo, Raianne, Tiago Calado, André, Núbia, Paulina, Amanda Gallindo, Renann e Paulo**, os quais contribuíram diretamente na conclusão desta etapa, pela cooperação, ajuda e força! Muito Obrigada!

A **Maria do Socorro Caldas Pinto**, pela força, cooperação e amizade.

A todos os **funcionários da UFRPE**, pela disponibilidade e apoio durante estes anos de convivência.

Aos colegas do **laboratório de Genética Molecular da UFPE**, em especial, **Neto, Manasses Daniel e Amanda**, pelo apoio e contribuição deste trabalho.

Aos meus amigos que estiveram torcendo e contribuindo para a conclusão desta etapa, em especial a **Maria da Assunção Silva e Ginny Giuliana**.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior** e a **Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco**, pela concessão da bolsa e apoio financeiro para realização da pesquisa.

Enfim, se faltou alguém ser lembrado, peço desculpas, porém jamais por falta de reconhecimento a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para realização de mais esta etapa, sendo assim, muito obrigada.

SUMÁRIO

	Página
Lista de Figuras	11
Lista de Tabelas	12
Resumo Geral	14
Abstract	17
Considerações iniciais	20
CAPÍTULO 1	22
Referencial Teórico	23
1.0. <i>Importância das leguminosas nativas no Nordeste Brasileiro</i>	23
1.1. <i>Estresse hídrico</i>	28
2.0. <i>Desmanthus</i> spp.....	30
2.1. <i>Utilização de Desmanthus</i> spp. na alimentação animal.....	32
2.2. <i>Fixação biológica de nitrogênio em Desmanthus</i> spp.....	33
2.3. <i>Estudos genéticos relacionado a Desmanthus</i> spp.....	35
3.0. <i>Melhoramento genético de forrageiras</i>	36
3.1. <i>Uso de marcadores moleculares em leguminosas</i>	38
Referencias bibliográficas.....	41
CAPÍTULO 2	56
Variabilidade genética de acessos de <i>Desmanthus</i> spp. oriundos de diferentes locais de coleta	56
Resumo.....	57
Abstract.....	58
Introdução.....	59
Material e Métodos.....	61
Resultados e Discussão.....	64
Conclusões.....	70
Agradecimentos.....	71
Referências Bibliográficas.....	72
CAPÍTULO 3	76
Avaliação morfológica, produtiva e química de <i>Desmanthus</i> spp. submetidos a suspensão hídrica	76
Resumo.....	77
Abstract.....	78
Introdução.....	79
Material e Métodos.....	82
Resultados e Discussão.....	87
Conclusões.....	113
Agradecimentos.....	114
Referências Bibliográficas.....	115
CAPÍTULO 4	123
Taxa de crescimento e Valor nutritivo de acessos de <i>Desmanthus pernambucanus</i> (L.) Thellung submetidos a dois intervalos de corte	123
Resumo.....	124
Abstract.....	126
Introdução.....	127

Material e Métodos.....	129
Resultados e Discussão.....	134
Conclusões.....	144
Agradecimentos.....	145
Referências Bibliográficas.....	146
Apêndice.....	151

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2

	Página
Figura 1. Exemplo de fragmentos amplificados (polimórficos e monomórficos) nos cinco acessos de <i>Desmanthus</i> spp., visualizados em gel de poliacrilamida 6%. *1 = 7G; 2 = 100C; 3 = 89F; 4 = NSDD; 5 = AusTRC; 6 = 43F; 7 = 21F. **NSDD e 21F não foram utilizados por problema na execução. ***CTC = M-CTC; CTG = M-CTG; CTT = M-CTT.....	66
Figura 2. Dendrograma considerando acessos de <i>Desmanthus</i> spp.	67

Capítulo 3

Figura 1. Taxa de crescimento em acessos de <i>Desmanthus</i> spp. submetidos a suspensão hídrica de 7 dias (♦) e 21 dias (□), durante período experimental de 252 dias.....	88
Figura 2. Diâmetro do caule das plantas de <i>Desmanthus</i> spp. submetidas a suspensão hídrica de 7 e 21 dias, durante o período experimental de 252 dias.....	90
Figura 3. Número de ramos em acessos de <i>Desmanthus</i> spp. submetidos a suspensão hídrica de 7 dias (♦) e 21 dias (□), durante período experimental de 252 dias.....	92
Figura 4. Número de folhas verdes em acessos de <i>Desmanthus</i> spp. submetidos a suspensão hídrica de 7 dias (♦) e 21 dias (□), durante período experimental de 252 dias.....	94
Figura 5. Comprimento de folhas em acessos de <i>Desmanthus</i> spp. submetidos a suspensão hídrica de 7 dias (♦) e 21 dias (□), durante período experimental de 84 dias.....	96
Figura 6. Largura de folhas em acessos de <i>Desmanthus</i> spp. submetidos a suspensão hídrica de 7 dias (♦) e 21 dias (□), durante período experimental de 84 dias.....	98

Capítulo 4

Figura 1. Precipitação pluvial mensal na Estação Experimental de Cana de açúcar de Carpina, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no Município de Carpina, PE, durante período experimental.....	130
--	------------

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2

	Página
Tabela 1. Relação dos acessos de <i>Desmanthus</i> spp. avaliados, com as respectivas procedências e coordenadas geográficas.....	61
Tabela 2. Totais de bandas amplificadas e polimórficas por iniciadores AFLP obtidos com DNAs de cinco acessos de <i>Desmanthus</i> spp.....	65
Tabela 3. Identidade genética (Ig) e distância genética (Dg) em cinco acessos de <i>Desmanthus</i> spp.....	67
Tabela 4. Estimativas do número de alelos e diversidade genética para os 707 marcadores AFLP nos cinco acessos de <i>Desmanthus</i> spp.....	69

Capítulo 3

Tabela 1. Identificação e origem dos acessos de <i>Desmanthus</i> spp. avaliados.....	82
Tabela 2. Fertilidade de amostras do solo utilizado, antes da aplicação dos tratamentos.....	83
Tabela 3. Produção de folha e caule dos acessos de <i>Desmanthus</i> spp. submetidas a suspensão hídrica de 7 e 21 dias.....	100
Tabela 4. Relação folha/ramo dos acessos de <i>Desmanthus</i> spp. submetidas a suspensão hídrica de 7 e 21 dias.....	101
Tabela 5. Matéria seca (MS) e material mineral (MM) da fração folha e caule das plantas de <i>Desmanthus</i> spp. submetidas a suspensão hídrica.....	102
Tabela 6. Proteína bruta (PB), nitrogênio (N), carbono (C) e relação carbono:nitrogênio (C:N) de frações da planta de <i>Desmanthus</i> spp. conforme os períodos de suspensão hídrica.....	104
Tabela 7. Conteúdo de clorofila <i>a</i> , de clorofila <i>b</i> e índice de SPAD em acessos de <i>Desmanthus</i> spp. cultivados em duas suspensões hídricas.....	107
Tabela 8. Correlação entre índice SPAD, clorofilas (<i>a</i> e <i>b</i>) e clorofila total (<i>a+b</i>), em acessos de <i>Desmanthus</i> spp. sob duas suspensões hídricas.....	108
Tabela 9. Carboidratos solúveis totais (g kg ⁻¹) em frações de acessos de <i>Desmanthus</i> spp., submetidos a diferentes períodos de suspensão hídrica.....	111

Capítulo 4

Tabela 1.	Fertilidade de amostras do solo da área experimental.....	129
Tabela 2.	Identificação dos acessos de <i>Desmanthus pernambucanus</i> (L.) Thellung avaliados, Estação Experimental de cana de açúcar da UFRPE, Carpina (PE).....	131
Tabela 3.	Taxa de crescimento (cm) dos acessos de <i>Desmanthus</i> spp. durante intervalo de corte de 75 dias e 120 dias.....	134
Tabela 4.	Matéria seca (MS), proteína bruta (PB), proteína precipitada em fenóis (PPP) e relação carbono:nitrogênio (C:N) de frações folha da planta de <i>D. pernambucanus</i> em relação ao efeito de intervalos de corte.....	136
Tabela 5.	Proteína bruta (PB), proteína precipitada em fenóis (PPP) e relação carbono:nitrogênio (C:N) da fração folha em relação ao efeito de acessos de <i>D. pernambucanus</i>	136
Tabela 6.	Matéria seca (MS), proteína bruta (PB), relação carbono:nitrogênio (C:N) da fração caule das plantas de <i>D. pernambucanus</i> submetidas a dois intervalos de corte..	140
Tabela 7.	Desaparecimento <i>in vitro</i> da matéria seca das folhas de acessos de <i>Desmanthus pernambucanus</i> (L.) Thell, submetidos a dois intervalos de corte.....	141

RESUMO GERAL

Conhecer a variabilidade genética e caracterização produtiva e nutritiva das espécies de *Desmanthus* spp. é essencial para identificação de materiais promissores. Objetivou-se avaliar a variabilidade genéticas de acessos de *Desmanthus* spp.; caracterizar a morfologia, produção e composição de plantas submetidas a suspensão hídrica de 7 e 21 dias, bem como caracterizar plantas manejadas sob dois intervalos de corte (75 e 120 dias). Para o estudo da variabilidade genética foram utilizados quatro acessos nativos da espécie *Desmanthus pernambucanus* (L.) Thellung (7G, 100C, 43F e 89F) provenientes do Banco de germoplasma (BAG) da UFRPE localizado em Serra Talhada-PE, e um acesso fornecido pela Embrapa Tabuleiros Costeiros - Sergipe (AusTRC, oriundo do banco de germoplasma, *Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation*-Austrália), identificado como *Desmanthus pubescens* B. L. Turner. Através da técnica de polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados (AFLP), observou-se em 32 combinações, 707 fragmentos amplificados, dos quais 436 (62%) foram polimórficos e 271 (38%) comuns aos cinco acessos, evidenciando a grande variabilidade existente entre os acessos avaliados. Além disso, a distância genética (Dg) não foi limitada pela distância geográfica, uma vez que, acessos 89F e AusTRC pertencentes a espécies distintas e oriundos de locais diferentes, Bom Jardim e Saint Croix (EUA), respectivamente, apresentaram menor Dg (33,5%). Acessos 43F e 100C pertencentes à mesma espécie oriundas dos municípios de Bom Jardim e Sertânia, respectivamente, apresentam maior Dg (57%). Os acessos mais próximos geograficamente (43F e 89F) e pertencentes à espécie *D. pernambucanus* apresentam alta Dg (0,6303), o que esta associada a uma variação intraespecífica. Avaliaram-se acessos de *Desmanthus* spp. submetidos à suspensão hídrica, em casa de vegetação, sendo três acessos de *Desmanthus* spp., dois nativos da espécie *D. pernambucanus* (43F e 89F) e um fornecido pela Embrapa Tabuleiros Costeiros - Sergipe

(AusT, oriundo do BAG CSIRO-Austrália) identificado apenas como *Desmanthus* spp., os quais foram submetidos a 7 e 21 dias de suspensão hídrica. Utilizou-se delineamento de blocos ao acaso, em esquema fatorial 3 x 2 (acesso e suspensão hídrica), quatro repetições, durante 252 dias de avaliação. A suspensão hídrica interferiu nas características morfológicas, produtivas e químicas dos acessos de *Desmanthus* spp. O acesso 43F apresentou decréscimo ($P \leq 0,05$) na taxa de crescimento de $0,03 \text{ cm dia}^{-1}$, os acessos AusT e 89F apresentaram ($P \leq 0,05$) taxa de crescimento médio de 8,40 e 4,27 cm, respectivamente, em suspensão hídrica de 21 dias. Também foram observadas reduções ($P \leq 0,05$) no número de ramos, número de folhas, comprimento das folhas e diâmetro do caule. Entretanto, os acessos 89F e AusT apresentaram aumento ($P \leq 0,05$) na largura das folhas em suspensão hídrica de 21 dias. Ocorreu acúmulo de prolina na suspensão hídrica de 21 dias de $90,22 \text{ mg kg}^{-1}$, tendo o acesso 43F apresentado maior ($P \leq 0,05$) acúmulo de $89,46 \text{ mg kg}^{-1}$ diferindo dos acessos 89F ($24,91 \text{ mg kg}^{-1}$) e AusT ($45,01 \text{ mg kg}^{-1}$). Acúmulos de carboidratos solúveis totais foram observados nas folhas das plantas submetidas à suspensão hídrica de 21 dias nos acessos 43F ($32,62 \text{ g kg}^{-1}$) e 89F ($33,07 \text{ g kg}^{-1}$), já o acesso AusT apresentou menor ($P \leq 0,05$) acúmulo de $13,64 \text{ g kg}^{-1}$. O acesso AusT apresentou, nas folhas das plantas, maior ($P \leq 0,05$) proteína bruta ($229,03 \text{ g kg}^{-1}$), maior ($P \leq 0,05$) carbono ($390,52 \text{ g kg}^{-1}$), menor ($P \leq 0,05$) relação C:N (10,65) e maior ($P \leq 0,05$) clorofila *a* ($25,33 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$) e *b* ($10,48 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$) na suspensão hídrica de 21 dias e em relação aos acessos *D. pernambucanus*. Observou-se que o índice SPAD não é indicado para avaliar *Desmanthus* spp. submetidos a suspensão hídrica de 21 dias. Existe grande variabilidade no grau de tolerância à seca entre espécies e dentro da espécie. Os acessos 43F e 89F foram mais susceptíveis a suspensão hídrica de 21 dias. O acesso AusT em cultivo sob suspensão hídrica de 21 dias, apresentou melhor desenvolvimento e composição química. Avaliou-se também acessos de *D. pernambucanus* (6G, 7G e AusTR)

cultivados em Carpina-PE, na Estação Experimental de Cana de açúcar, da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os acessos foram submetidos a dois intervalos de corte de 75 e 120 dias, Março e Outubro de 2015, respectivamente, em delineamento inteiramente casualizado em parcelas subdivididas, com quatro repetições. Apenas o acesso 6G apresentou queda na taxa de crescimento de plantas entre os intervalos de corte, com taxa de crescimento maior ($P \leq 0,05$) na estação chuvosa (intervalo de 75 dias) de 53,01 cm, e menor ($P \leq 0,05$) na estação seca (intervalo de 120 dias) de 11,01 cm. O intervalo de corte de 120 dias proporcionou maior ($P \leq 0,05$) diâmetro do caule (2,29 cm), maior ($P \leq 0,05$) matéria seca (MS) nas folhas (484,87 g kg⁻¹), menor ($P \leq 0,05$) proteína bruta (PB) nas folhas (202,07 g kg⁻¹) com alta ligação aos taninos condensados (TC), onde foram observados valores de 78,27 g kg⁻¹ de PPP (proteína precipitada em fenóis) nesse intervalo. O AusTR apresentou maior ($P \leq 0,05$) MS (450,87 g kg⁻¹). Os acessos 6G e 7G não diferindo entre si, apresentando valores de 397,87 e 393,03 g kg⁻¹, respectivamente. Maior ($P \leq 0,05$) PB foi encontrada no AusTR (233,91 g kg⁻¹) com valor de PPP de 36,85 g kg⁻¹, já os acessos 6G (214,44 g kg⁻¹) e 7G (210,54 g kg⁻¹) apresentaram menor ($P \leq 0,05$) PB (214,44 g kg⁻¹ e 210,54 g kg⁻¹, respectivamente) e PPP de 50,93 g kg⁻¹ e 69,50 g kg⁻¹, respectivamente. A relação C:N foi de 11,05 (AusTR), 12,37 (6G) e 12,48 (7G), indicando maior rapidez na liberação de nitrogênio na decomposição da fração folha do acesso AusTR, em relação aos acessos 6G e 7G. O desaparecimento *in vitro* da MS nos acessos 6G, 7G e AusTR foi de 651,67, 614,32 e 666,71 g kg⁻¹, respectivamente no intervalo de corte de 75 dias e de 586,09, 617,11 e 580,75 g kg⁻¹, respectivamente no intervalo de corte de 120 dias. Intervalos de 75 dias entre cortes para plantas da espécie *D. pernambucanus* são mais indicados, resultando em melhor composição química e maior taxa de crescimento das plantas. O acesso AusTR apresenta as maiores taxas de crescimento e melhor valor nutritivo.

ABSTRACT

Knowing the genetic variability, production characteristics and nutritive values of *Desmanthus* species is essential to identifying promising germplasm within this genus. The objective was to study the genetic variability of *Desmanthus* spp., namely the morphological, production, and evaluation of plants submitted to moisture stress as well as evaluate of plants submitted to 75 or 120-day cutting intervals. To study the genetic variability we used four accesses native species *D. pernambucanus* (L.) Thellung (7G, 100C, 43F e 89F) from the Federal Rural University of Pernambuco germplasm bank in Serra Talhada-PE, and *Desmanthus pubescens* AusTRC, from Embrapa Tabuleiros Costeiros –Sergipe. Through amplified fragment length polymorphism (AFLP), 38 primers were tested, 32 combinations amplified 707 fragments, of which 436 (62%) were polymorphic and 271 (38%) monomorphic, indicating a wide variability among the five accessions. NEI genetic distance matrix indicated that 89F and AusTRC, distinct species collected from different locations (Bom Jardim and Saint Croix, USA, respectively), had less genetic distance (33.5%) compared to 43F and 100C belonging to *D. pernambucanus* but collected in Bom Jardim and Sertania, with 57% distance. The geographically closest *D. pernambucanus* accessions, 43F and 89F, had the greatest genetic distance (63%). We submitted three *Desmanthus* spp. accessions to moisture stress, in a greenhouse: two native species *D. pernambucanus* (43F e 89F) and one accession, *Desmanthus* spp. (AusT), from Embrapa Tabuleiros Costeiros –Sergipe, were submitted to moisture stress 7 and 21-day. The 43F accession showed a decrease ($P \leq 0.05$) in growth rate of 0.03 cm day⁻¹ in diameter, Aust and 89F accessions showed ($P \leq 0.05$) growth rate average of 8.40 and 4.27 cm, respectively in water suspension of 21 days. We also observed reductions ($P \leq 0.05$) in the number of branches, number of leaves, length of leaves and stem diameter. However, 89F and Aust accesses showed an increase ($P \leq 0.05$) in width of water hanging on leaves after

21 days. Occurred proline accumulation in moisture stress 21-day of 90.22 mg kg⁻¹, and greater 43F shown ($P \leq 0.05$) accumulation of 89.46 mg kg⁻¹ differing from 89F (24.91 mg kg⁻¹) and AusT (45.01 mg kg⁻¹) accesses. Accumulation of total soluble carbohydrates were observed in leaves of plants submitted to moisture stress 21-day in 43F (32.62 g kg⁻¹) and 89F (33.07 g kg⁻¹), AusT showed accumulation lower of 13.64 g kg⁻¹. AusT presented in leaves, the higher ($P \leq 0.05$) crude protein (229.03 g kg⁻¹), higher ($P \leq 0.05$) carbon (390.52 g kg⁻¹), the lower ($P \leq 0.05$) C:N ratio (10.65) and higher ($P \leq 0.05$) chlorophyll *a* (25.33 µg g⁻¹) and *b* (10.48 µg g⁻¹) submitted to moisture stress 21-day compared to *D. pernambucanus*. accesses. It was observed that SPAD is not suitable for evaluating chlorophyll content in *Desmanthus* spp. submitted to moisture stress 21-day. As such, 43F and 89F were more susceptible to water 21 day moisture stress. Accession AusT is indicated for cultivation under water suspension of 21 days, with better morphological and chemical behavior. The third study included *D. pernambucanus* accessions 6G, 7G and AusTR. The field trial took place at the Experimental Cane Sugar Carpina, Federal Rural University of Pernambuco, Carpina City. The accessions were submitted to two cutting of 75 and 120-days intervals, between March and October 2015. 6G exhibited greater growth in the rainy season at 75-day intervals (53.01 cm) compared to the dry season 120-day interval (11.01 cm). The 120-day interval resulted in 0.36% greater stem diameter (2.29 cm), 41% greater leaf DM content (484.87 g kg⁻¹), 17.37% less leaf crude protein (CP; 202.07 g kg⁻¹), with 194.45% greater binding to condensed tannins (CT), where 78.27 g kg⁻¹ protein precipitable phenols (PPP) were measured plants cut at 75-day intervals. Compared to 6G and 7G which did not differ from each other, AusTR had 14% greater DM (450.87 g kg⁻¹). The 6G and 7G access not differ from each other, with 397.87 and 393.03 g kg⁻¹ values, respectively. Higher ($P \leq 0.05$) CP was found in AusTR (233.91 g kg⁻¹) with PPP of 36.85 g kg⁻¹, as the 6G (214.44 g kg⁻¹) and 7G (210.54 g kg⁻¹) access had

lower ($P \leq 0,05$) CP (214.44 g kg⁻¹ and 210.54 g kg⁻¹, respectively) and PPP 50.93 g kg⁻¹ and 69.50 g kg⁻¹, respectively. AusTR C:N ratio was 11.05, indicating greater N liberation during leaf decomposition compared to 6G with 12.37, and 7G with 12.48. In vitro DM disappearance for 6G was 651.67 g kg⁻¹, 614.32 for 7G, and 666.71 for AusTR at 75-day intervals and 586.09, 617.11 e 580.75 g kg⁻¹, respectively, for 120-day intervals. Seventy-five-day cutting intervals for these *Desmanthus* species resulted in the best nutritional values and yields compared to 120-day intervals. Compared to the *D. pernambucus* accessions, AusTR had greater regrowth and nutritive value.

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

As leguminosas forrageiras na pastagem promovem incrementos na produção animal, ao solo e as plantas. Sua capacidade de fixação de nitrogênio, permite a disponibilização deste elemento as plantas consorciadas diminuindo custos com adubação. Proporcionando aumento da qualidade e da quantidade da foragem em oferta para produção animais, além de aumentar os teores de matéria orgânica do solo.

Dessa forma, a preservação de recursos genéticos adaptados a diferentes habitats ascende o interesse pela conservação de germoplasma, principalmente devido as altas taxas de erosão de recursos genéticos e a perda de componentes da biodiversidade em virtude da seleção natural como pela ação antrópica. Com isso a conservação de espécies vegetais através da instalação de bancos de germoplasma, tem constituído uma alternativa na preservação da biodiversidade vegetal. Possibilitando caracterizações de material vegetal adaptado as diferentes condições edafo-climáticas impulsionando estudos de seleção em programa de melhoramento para liberação de genótipos promissores. Para tal, é primordial o conhecimento da variabilidade genética dentro e entre populações de plantas e na elucidação de parentescos entre acessos dentro de uma espécie, assim como da produtividade e qualidade diante de condições abióticas impostas pelo meio.

Sendo assim, a conservação e caracterização de espécies do gênero *Desmanthus* que possui 24 espécies de leguminosas nativas das Américas, onde estas se apresentam como tolerantes a regiões semiáridas, que formam simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio e são adaptadas a variações de características físicas e químicas de solos, são pertinentes no sentido de possibilitar melhoramento de suas espécies gerando perspectivas interessantes do ponto de vista do potencial forrageiro para alimentação dos rebanhos no semiárido.

Neste sentido, os objetivos desta tese foram:

- (a) Avaliar a variabilidade genética de acessos de *Desmanthus* spp.;
- (b) Avaliar a caracterização morfológica, produtiva e química de acessos de *Desmanthus* spp. submetidos a suspensões hídricas de 7 e 21 dias;
- (c) Avaliar nutricionalmente acessos de *Desmanthus pernambucanus* submetidos a dois intervalos de corte de 75 e 120 dias, correspondentes a período chuvoso e seco, respectivamente.

CAPÍTULO 1

REFERENCIAL TEÓRICO

REFERENCIAL TEÓRICO

1.0. Importância das leguminosas nativas do Nordeste Brasileiro

A exploração forrageira das espécies vegetais nativas é uma das principais características da produção de ruminantes no Bioma Caatinga, com destaque para as plantas leguminosas (*Fabaceae*), que representam 86 gêneros nativos e 320 espécies, equivalente a cerca de um terço da riqueza do bioma (Queiroz, 2009), sendo 212 gêneros nativos e 2.732 espécies no Brasil (Lima et al., 2013). A fixação de nitrogênio no solo e seu repasse ao agroecossistema caracterizam a grande importância destas plantas, que comprovadamente fixam nitrogênio na agricultura e pecuária, desempenhando papel como plantas de cobertura, adubação verde, consórcio, utilização na recuperação de solos degradados em sistemas ecológicos sucessionais como espécies pioneiras, e na pecuária com formação de legumineiras e de pastejo, seja em pastagens consorciadas com gramíneas ou como banco de proteínas (Fontenele et al., 2009; Andrade et al., 2010).

Segundo Tisdale et al. (1985), cerca de 75% do nitrogênio presente nas leguminosas fixadoras de nitrogênio são oriundos da fixação biológica (associação simbiótica às bactérias fixadoras de nitrogênio), o que elege às leguminosas verdadeiras biofábricas consumidoras de energia limpa e renovável. Nesse contexto, o aporte de nitrogênio ao sistema solo-planta-animal, através da sua reciclagem e transferência a gramíneas acompanhantes, resulta na melhoria e diversificação da dieta do animal.

Atualmente, algumas leguminosas forrageiras nativas do Brasil são amplamente cultivadas e desempenham importância econômica em diversos países, tais como China, Índia, Tailândia, e países do continente africano (Skerman et al., 1988; Vuthiprachumpai et al., 1998; Singh et al., 2007; Ajayi et al., 2008; Liplang et al., 2008; Liu et al., 2008).

No Semiárido Nordestino, a produção de pequenos ruminantes é caracterizada por animais mestiços e ou nativos, sendo a Caatinga a mais importante fonte de alimentação desses rebanhos. Nesta área, a produção, utilização e diferentes estratégias de alimentação dos animais é um desafio, considerando as exigências nutricionais de diferentes categorias de ruminantes e vegetação e seus respectivos estágios fisiológicos. Segundo Araújo Filho (1992), o potencial de produção de matéria seca (MS) da Caatinga atinge em média 4000 kg/ha/ano, sendo essa produção resultante do somatório da porção forrageira da parte aérea das plantas lenhosas (árvores e arbustos) e das folhas e ramos das espécies herbáceas. Entretanto, a produção dessas forrageiras apresenta grande variação em função dos fatores ambientais (estações do ano e ação antrópica), tendo, então, a maior disponibilidade de forragem ocorrente na estação chuvosa, que é formada pelo estrato herbáceo (Santos et al., 2010). Já no período de estiagem, as folhas senescentes das plantas lenhosas são incorporadas à dieta dos animais e podem representar o único recurso forrageiro disponível. Os ramos finos de espécies arbóreo-arbustivas nativas da Caatinga também podem contribuir significativamente na porção volumosa da dieta dos pequenos ruminantes (Bakke et al., 2010).

Pfíster (1986) e Araújo Filho et al. (1996) relatam que, em área de Caatinga, a composição da dieta de caprinos varia de 0,3 a 43% de gramíneas; 3,1 a 57% de dicotiledôneas herbáceas; e 11,3 a 88,4% de espécies lenhosas. Enquanto a dieta dos ovinos varia de 0,7 a 59% de gramíneas; 6,6 a 67% de dicotiledôneas herbáceas; e 5,5 a 84,8% de espécies lenhosas, dependendo da época do ano, da composição botânica da pastagem e da área de avaliação.

Apenas uma proporção de plantas presente na Caatinga apresenta valor forrageiro (Santos et al., 2010). Nas plantas da Caatinga, os teores médios de proteína bruta (PB) decrescem conforme se encerra o período das chuvas, variando de 9,1 a 8,4%, no estrato

herbáceo e de 17,5 a 15,4%, no arbóreo-arbustivo (Ydoyaga Santana et al., 2011). Moreira et al. (2006) citam teores médios de PB variando de 7,61 a 16,88% em estudos nutricionais de várias espécies arbóreas, arbustivas e herbáceas da Caatinga, na época chuvosa do ano. Segundo Araújo Filho et al. (2002b), os teores de proteína bruta são maiores na fase vegetativa da planta, diminuindo com a fase reprodutiva, de florescimento e frutificação, chegando a 18,9; 16,1 e 13,7%, respectivamente. Contudo, a digestibilidade dessas plantas da Caatinga normalmente é baixa (Santos et al., 2010), o que pode estar associada à presença de altos teores de tanino, além do aumento de teor de fibra com o avanço do final do período chuvoso. Com isso, as proporções de proteína bruta podem ser limitantes, mesmo que em altas concentrações, em casos de forrageiras da Caatinga com baixa digestibilidade, associada a altos teores de tanino e lignina, além da expressiva porcentagem de proteína ligada à fibra em detergente ácido, inviabilizando-a ao animal (Cruz et al., 2007; Azuhnwi et al., 2012).

Alguns trabalhos sugerem a associação da concentração de tanino condensado (TC) com a diminuição da digestibilidade dos nutrientes (Ramírez et al., 2000; Guimarães-Beelen et al., 2006; Vitti et al., 2005). Os taninos são substâncias naturais largamente distribuídas no reino vegetal, estão incluídos no grupo dos polifenóis solúveis em água, tendo peso molecular entre 500 e 3.000, os quais contêm hidroxilas que formam fortes complexos com proteínas e outras moléculas e são sintetizados em certas espécies de plantas como fatores de proteção contra herbívoros e as doenças patógenas, sendo essenciais para o crescimento e reprodução do vegetal (Van Soest, 1994). A concentração de tanino nas plantas varia quanto à idade e tamanho da planta, tecido vegetal, parte coletada, época e local de coleta (Monteiro et al., 2005), estresse por causa da seleção de herbívoros, variação de solo, temperatura, água, disponibilidade de nutrientes e concorrência com outras plantas (Muir, 2011).

A alta concentração de TC (6% a 12% da MS), unidades de flavonoides com diferentes graus de condensação, influenciam negativamente a degradação ruminal da matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro, além da diminuição de consumo pelos animais, diminuindo a adesão microbiana às folhas das forrageiras e redução da atividade enzimática no conteúdo ruminal dos animais (Frutos, 2002; McSweeney et al., 2005; Krueger et al., 2010). Em contrapartida, o consumo de TC pelos ruminantes em baixa concentração (3 a 4% da MS) pode relacionar efeitos positivos ao animal, como a proteção de proteína alimentar contra a excessiva degradação ruminal, aumentando o fornecimento de proteína “by-pass” (proteína não degradada) para a digestão no intestino delgado, o que proporciona um aumento na absorção deste nutriente no intestino delgado, melhorando a utilização de aminoácidos essenciais na dieta e prevenindo o timpanismo (Makkar, 2003; Tedeschi et al., 2011b; Azuhwi et al., 2012).

Ramírez-Restrepo (2004) atribui o aumento do desempenho dos animais à redução da degradação microbiana das proteínas no rúmen, ocasionado pela ligação das proteínas ao tanino, e, conseqüentemente, ocorre aumento na disponibilidade de aminoácidos no intestino e, assim, absorção, bem como correlação positiva da concentração de TC na dieta de ovinos com aumento da fertilidade, decorrente de um aumento linear na taxa de ovulação, apresentando aumento de 16% no número de cordeiros nascidos e desmamados (Ramírez-Restrepo e Barry, 2005; Ramirez-Restrepo et al., 2005a).

Além disso, investigações que reduzam a emissão de gás metano (CH₄) pelos ruminantes associam os taninos condensados nas plantas como aliado a este efeito redutivo, indiretamente através da ligação a fibras dietéticas e/ou reduzindo a digestão no rúmen e digestibilidade aparente da fibra, e diretamente por inibir o crescimento de metanógenos no rúmen (Ramirez-Restrepo et al., 2010a). Waghorn et al. (2002) relatam que os níveis mais baixos de produção de gás metano (g/kg ingestão de matéria seca;

rendimento CH₄) podem estar associados a forrageiras com altos índices de carboidratos não fibrosos e a presença de TC. Entretanto, Naumann et al. (2013b) mencionam que a concentração por si só de TC na atividade biológica não é um indicativo confiável relacionado à redução da produção de CH₄. Os autores consideram que outros aspectos precisam ser considerados, como a concentração de TC na forragem consumida, reatividade do TC (ou seja, atividade biológica) e o metabolismo dos ruminantes. A reatividade do TC, por sua vez, depende de múltiplos fatores, incluindo espécies de plantas e elementos que são inerentes à sua estrutura molecular, tamanho, peso e unidades de polímero (Naumann et al., 2013a).

Guimarães-Beelen et al. (2006), trabalhando com leguminosas nativas, observaram que a Jurema preta (*Mimosa hostilis*), Sabiá (*Mimosa caesalpinifolia*) e o Mororó (*Bauhinia cheilantha*) apresentam altas concentrações de tanino total, superior a 10% da MS em todas as fases do ciclo fenológico, considerando, assim, como de efeito antinutricional. A Jurema preta apresentou decréscimo na concentração em tanino solúvel, à medida que as folhas amadurecem. Já o Sabiá e o Mororó apresentaram alta concentração na fase de floração, o que pode estar associado à proteção do consumo por herbívoros nessa fase de reprodução. Entretanto, Silva e Medeiros (2003) observaram baixos teores de tanino condensado em jureminha (*Desmanthus virgatus*; 2,4% de TC), maniçoba (*Manihot pseudoglazovii*; 1,6% de TC) e feijão-bravo (*Capparis flexuosa* L.; 0,6% de TC).

Como visto, os nutrientes das espécies forrageiras podem estar altamente disponíveis ou indisponíveis aos animais, dependendo de diversos fatores. Além disso, diversos estresses ambientais ocasionados pelos fatores edafoclimáticos da região Semiárida, principalmente a irregular precipitação pluviométrica, que vem aumentando com o tempo, promovem mudanças adaptativas às plantas da região, tais como condutância estomática reduzida, diminuição da área foliar, espessamento de paredes celulares,

aumento da cerosidade da cutícula, desenvolvimento de sistemas de raízes extensos e aumento da razão raiz/parte aérea (Taiz & Zeiger, 2004), destacando as leguminosas nativas.

Por outro lado, a tolerância à seca é alcançada por mecanismos fisiológicos, bioquímicos e moleculares específicos de células e tecidos (Reddy et al., 2004). Plantas da Caatinga apresentam adaptações às condições semiáridas, como perda de folhas no período seco, raízes tuberosas para armazenamento de água, o que permite a rebrota da planta mesmo após longos períodos de falta de água ou mesmo intervenções antrópicas (Sampaio, 1995).

Considerando o quinto relatório de avaliação do “*Intergovernmental Panel on Climate Change*”, a média de temperatura da superfície global deve aumentar de 1,1 a 6,4°C, no final deste século (<http://www.ipcc.ch/>). Com o aquecimento global, são esperadas maiores ocorrências de estresse hídrico, devido ao aumento da evapotranspiração, da frequência e intensidade da seca, com uma elevação de 1 a 30% das áreas secas da terra até 2100, que, provavelmente, poderá ser compensada pelo aumento da concentração de CO₂, limitando ainda mais a estrutura dos ecossistemas terrestres (Knapp et al., 2001; Chaves et al., 2003). A seca é um grave problema, restringindo o crescimento das plantas, a produtividade de ecossistemas terrestres, em várias regiões do mundo, particularmente regiões áridas e semiáridas.

1.1. Estresse hídrico

O estresse hídrico é um dos fatores ambientais mais importantes, pois interfere no crescimento e desenvolvimento das plantas, limitando a produção e induzindo a alterações nas características fisiológicas e bioquímicas (Zobayed et al., 2007). Com a redução de água no solo, as raízes transmitem estímulos à parte aérea, onde é gerada uma resposta

integrada da planta, permitindo sua sobrevivência até que a disponibilidade de água aumente.

O aperfeiçoamento na absorção de água em solos de baixa umidade é proveniente de estratégia fisiológica de tolerância às condições de estresse hídrico, onde ocorrem investimentos no aprofundamento do sistema radicular, diminuição de perda de água, em função do fechamento estomático, reduções no conteúdo relativo de água nas folhas, além de redução no potencial hídrico foliar, promovendo fechamento estomático e consequente redução na entrada de CO₂, acarretando um declínio da taxa fotossintética foliar (Chaves e Oliveira, 2004; Lawlor e Cornic, 2002). Contudo, os efeitos vão depender da intensidade e duração do déficit hídrico imposto (Pinheiro e Chaves, 2011), bem como da capacidade geneticamente determinada da espécie em lidar com o meio ambiente.

As alterações da planta podem ocorrer em curto prazo, com o aumento na razão sacarose/amido pelo carbono recentemente fixado, ou em longo prazo, pelo pool de solutos orgânicos de baixo peso molecular, solutos compatíveis, com processo de ajuste osmótico, onde ambas as alterações fazem parte de uma resposta reguladora da planta para manter a turgescência foliar sob baixa disponibilidade de água (Bajji et al., 2011). Segundo Turner (1997), o ajuste osmótico funciona por meio de aumento líquido da concentração de solutos no interior das células, auxiliando na manutenção da turgescência, permitindo às plantas manterem suas atividades metabólicas, crescimento e produtividade. Deste modo, o ajuste osmótico permite a manutenção da abertura estomática e da fotossíntese sob condições de baixo potencial hídrico no solo.

Plantas submetidas a déficits hídricos podem acumular prolina (Yamada et al., 2005; Verslues e Sharma, 2010) e carboidratos (Pereira et al., 2012). Os carboidratos podem ser armazenados na forma de polissacarídeos com baixa atividade osmótica, como o amido, quanto na forma de açúcares altamente solúveis e higroscópicos, como a sacarose

e hexoses (Whittaker et al., 2007). A prolina aumenta a atividade das enzimas proteolíticas, promovendo uma disponibilidade maior desse aminoácido livre, no sentido de proteger os tecidos vegetais contra esse estresse, por servirem como reserva de nitrogênio, osmo-soluto e protetor de enzimas e estruturas celulares (Yancey, 2005). Conforme Alia (2003), a prolina constitui menos que 5% dos aminoácidos totais livres em plantas mantidas sob condições normais, enquanto em plantas submetidas ao estresse hídrico, a concentração de prolina pode chegar a 80% do pool total de aminoácidos.

Diante disso, torna-se importante a utilização de alternativas alimentares que não sofram ou apresentem pouca variação produtiva, com valores nutricionais relevantes para sobrevivência dos animais da região, principalmente na época de menor recurso hídrico. A utilização de leguminosas forrageiras mostra-se com grande potencial nesta questão, principalmente as nativas, sendo alvo de estudos desenvolvidos para as regiões de clima Semiárido.

2.0. *Desmanthus* spp.

O gênero *Desmanthus*, composto por 24 espécies de leguminosas naturalmente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais das Américas, com maior diversidade no México (14 espécies) e sul do Texas, EUA (8 espécies) (Lucrow, 1993; Muir, 2014), vem sendo motivo de diversos estudos, principalmente pela presença de espécies nativas na região semiárida Nordestina, onde as irregularidades pluviométricas selecionam a vegetação da região.

Numerosos acessos de *Desmanthus* spp. foram recolhidos e introduzidos na Austrália por diversas instituições, notadamente *Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation/Organização de Pesquisa da Comunidade Científica e Industrial* e *Queensland Department of Primary Industries/Departamento de Indústrias Primárias de Queensland*, ao longo dos últimos 50 anos (Reid, 1983; Pengelly e Liu 2001). No Brasil,

expedições de coletas foram realizadas em 11 municípios nos diferentes solos no Semiárido de Pernambuco (Queiroz, 2012), sendo os acessos recolhidos e introduzidos no banco de germoplasma, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, tendo Albuquerque (2013) observado pouca variabilidade morfológica entre 17 acessos destes, ocorrendo à formação de um grande grupo com quinze acessos.

Gardiner e Swan (2008) relatam que acessos de *Desmanthus* spp. foram os únicos sobreviventes em locais abandonados com leguminosas no Norte e Centro-Oeste do Semiárido de Queensland (pluviosidade < 500 mm), onde os acessos persistiram por mais de duas décadas a pastoreio, secas, inundações, incêndios e geadas. A partir destas observações, foram selecionadas as melhores espécies (*Desmanthus bicornutus*, *Desmanthus leptophyllus* e *Desmanthus virgatus*) e liberadas como uma mistura chamada *Progardes*TM (Pro: devido à proteína; gar: em homenagem à Gardiner; e des: relacionada à *Desmanthus*).

As espécies do gênero *Desmanthus* são nutritivas (Schlink e Burt, 1993; Jones e Clem, 1997; Jones et al., 2000; Zamora et al., 2002; Fischbach et al., 2005), palatáveis, produtivas, tolerantes à seca (Cook et al., 1993; Gardiner e Burt, 1995; Jones e Brandon, 1998; Pengelly e Conway 1998; Fischbach et al., 2005; Zabala et al., 2008), é uma das poucas leguminosas persistentes sob superpastejo em solos argilosos em seus ambientes nativos (Pengelly e Conway 2000), o que atribui como leguminosa de potencial para solos argilosos. Além disso, apresenta alta produção de sementes, um componente-chave para persistência de plantas, com produção de 278 kg ha⁻¹ (*Desmanthus bicornutus*), 450 kg ha⁻¹ (*Desmanthus illinoensis*) e 545 kg ha⁻¹ (*Desmanthus virgatus*) (Beyhaut et al., 2003).

Segundo estudo taxonômico de Lucrow (1993) são cinco as espécies nativas no Brasil, composta de *Desmanthus leptophyllus* Kunth (nos estados da Bahia, Ceará e Minas Gerais); *Desmanthus paspalaceus* (Lindm.) Burkart (sendo naturalmente encontrada nos

estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina); *Desmanthus pernambucanus* (L.) Thellung (nos estados da Bahia, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Mato Grosso do Sul e Rio de Janeiro); *Desmanthus tatuhyensis* Hoehne (nos estados de São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina); e *Desmanthus virgatus* (L.) Willd (nos estados de Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Mato Grosso do Sul, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Sul e Santa Catarina), registrados também em estudos da flora do Brasil (Morim e Lima, 2015).

2.1. Utilização de *Desmanthus* spp. na alimentação animal

Segundo Suksombat e Buakeeree (2006), a espécie *Desmanthus virgatus* (L.) Willd, espécie mais estudada, apresenta composição químico-bromatológica satisfatória para alimentação de ruminantes, apresentando valores de 606 e 547 g kg⁻¹ de MS (Matéria Seca); 237 e 99 g kg⁻¹ de PB (Proteína Bruta); 120 e 468 g kg⁻¹ de FB (Fibra Bruta); 80 e 36 g kg⁻¹ de cinzas e, 36 a 17 g kg⁻¹ de EE (Estrato Etéreo) nas folhas e caule, respectivamente, assim como em forma de feno, onde apresentam teores de 188 g kg⁻¹ de PB; 487 g kg⁻¹ de FDN (Fibra em Detergente Neutro); 389 g kg⁻¹ FDA (Fibra em Detergente Ácido) da matéria seca, resultado superior a espécies como Maniçoba (*Manihot caerulescens* Pohl), Flor-de-seda [*Schumbergera truncata* (Haw.)] e Feijão-bravo (*Centrosema latissimum*). Além disso, as folhas de *Desmanthus* spp. apresentaram valores de 24 g kg⁻¹ de tanino total e 429 g kg⁻¹ de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) (Cruz et al., 2007).

Com isso, a introdução de *Desmanthus* spp. como suplementação na alimentação animal, garante ganhos significativos, como relatam estudos com a *Progardes*TM em pasto de Capim-buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) sob pastejo de ovinos e caprinos, garantindo aos animais um adicional de 40 kg de peso vivo ao longo de 90 dias de pastejo (Gardiner e Parker, 2012). Na Tailândia, a espécie *D. virgatus* é considerada fonte complementar de

proteína para os animais ruminantes, podendo garantir ganhos de 0,89 kg/animal em 90 dias, quando suplementados com folhas frescas da espécie (Sukkasame e Phaikaew, 2011), assim como benefício financeiro em áreas com chuvas irregulares, como suplemento na alimentação de ovelhas na forma de feno, reduzindo a perda de peso e maior crescimento de lã dos ovinos (Rangel e Gardiner, 2009).

Da mesma maneira, *Desmanthus* tem sido indicado juntamente com concentrado para alimentação de coelhos brancos, proporcionando melhor taxa de conversão alimentar com menor custo de produção por kg de peso corporal (Gunasekaran et al., 2013). Em estudos de identificação da composição nutritiva selecionada por ovinos e caprinos no deserto da Colômbia, a espécie *D. virgatus* apresentou maior consumo pelos pequenos ruminantes (Romero e Duarte, 2012). Santos et al. (2008), estudando a composição botânica da dieta de ovinos em área de Caatinga no sertão de Pernambuco, observou presença de *D. virgatus* na extrusa desses animais, no início dos períodos chuvoso e seco.

2.2. Fixação biológica de nitrogênio em *Desmanthus* spp.

Várias investigações têm-se centrado sobre o isolamento, análise e caracterização simbiótica de estirpes rizobianas que são capazes de se associar com *Desmanthus* spp. (Date, 1991; Beyhaut et al., 2003; Beyhaut et al., 2006; Freitas et al., 2011). Entretanto, parecem exigir estirpes específicas para ocorrência de nodulação (Freitas et al., 2011). As espécies *Desmanthus illinoensis* (Michx.) Macmillan e *D. virgatus* apresentam capacidade de nodular naturalmente com rizóbios ocorrentes no solo, enquanto *D. bicornutus* não apresenta esta capacidade, exigindo uma estirpe específica (Beyhaut et al., 2003). Estudos de Date (1991) e Burt (1993) recomendam a estirpe CB3126 (isolado do *L. leucocephala* por Date, 1991) como inoculante para *Desmanthus* spp. Assim, a inoculação de *D. virgatus* com a estirpe de *Rhizobium* CB3126 aumentou a produção de folhas nas plantas em

relação aos controles não inoculados, tanto em estufas (Bahnisch et al., 1998) como em campo (Brandon et al., 1998).

Sinsuwongwat et al. (2002) observaram presença de plantas de *D. virgatus* na Tailândia nodulada por *R. leguminosarum*. Estudos de Beyhaut et al. (2006) caracterizaram a simbiose e filogenia dos nódulos isolados na raiz de *D. illinoensis* recolhidos nos EUA, sendo a maioria dos isolados identificados como *Rhizobium giardinii*, com apenas dois deles sendo mais estreitamente relacionado com *R. etli* (originalmente reportado como *R. leguminosarum*) através de análise 16S-rDNA. Contudo, nenhum desses isolados de *D. illinoensis* foi infeccioso em *D. virgatus*, exigindo, assim, espécies específicas para a nodulação de *Desmanthus* spp. Recentemente, Fornazero et al. (2014) observaram diversificação genética e fenotípica de tipos de rizóbios associados às plantas de *D. paspalaceus*, recolhidas na província de Santa Fé - Argentina. Desses materiais, foram observados tolerantes a estresses abióticos, como acidez e salinidade marcante para muitos dos isolados, enquanto alguns foram também capazes de crescer acima de 40 °C em meio sólido, contendo ágar, temperatura frequentemente encontrada em regiões Semiáridas.

De forma ampla, os dados em conjunto da literatura indicam que *Desmanthus* spp. podem ser nodulados por estirpes de a) *Rhizobium* (por exemplo, *D. illinoensis* por *R. giardinii* e *R. Leguminosarum*; Beyhaut et al., 2006); *D. virgatus* por *R. leguminosarum* (Sinsuwongwat et al., 2002); *Desmanthus paspalaceus* pelo *R. alamii* e *R. mesosinicum* (Fornazero et al., 2014), b) *Mesorhizobium* (Fornazero et al., 2014 e duas estirpes de Genbank relatado por Beyhaut et al., 2006); e c) Sinorhizobium, como demonstrado por Fornazero et al. (2014), através de 16S-rDNA da estirpe CB3126, infectantes em *Desmanthus virgatus*, isolada originalmente de *L. leucocephala* (Date, 1991).

Freitas et al. (2011) citam fixação de nitrogênio em *Desmanthus pernambucanus* (L.) Thellung na faixa de 30 kg N/ha ano⁻¹. Recentemente, Diniz (2016) observou variação

da fixação em *Desmanthus* spp. entre 85,51 a 97,59 kg N/ha ano⁻¹. Com a capacidade de fixação das espécies de *Desmanthus* spp. num sistema de pastagem consorciada, resultados significativos podem ser alcançados, tanto na produção de matéria seca como carboidratos provenientes da biomassa microbiana, respiração do solo e atividade de desidrogenase, contribuindo com a conservação do solo.

2.3. Estudos genéticos relacionados à *Desmanthus* spp.

Segundo Lucrow (1993) e Gardiner e Burt (1995), existe um grande polimorfismo intra e interespecífico no gênero *Desmanthus*, o que constitui um fator muito importante na busca de acessos de alta produção de forragem. Essa variabilidade genética possibilita adaptação às mudanças ambientais (Daufresne e Renault, 2006). A utilização de marcadores moleculares, sequências de DNA que revelam polimorfismos entre indivíduos geneticamente relacionados, passam a ser essenciais para complementar as informações ecológicas, morfológicas e agrônômicas dos recursos genéticos, contribuindo para aumentar a eficiência dos processos de coleta, enriquecer a base genética, formar e validar coleções nucleares e de trabalho, analisar a diversidade e a pureza genética, identificar acessos semelhantes, auxiliar no trabalho de classificação botânica e filogenia, subsidiar a seleção de genitores, o planejamento dos cruzamentos e a seleção de genótipos com características desejadas em programas de melhoramento genético (Faleiro, 2007).

Hughes et al. (2003) observaram casos de polimorfismo de ITS (região espacial transcrita interna) com acessos de *D. acuminatus*, *D. pubescens* e *D. bicornutus*. DeHaan et al. (2003) encontraram baixa diversidade (HS = 0,013) dentro de três acessos da espécie *Desmanthus illinois*, nativa da América do Norte, através de marcadores de polimorfismo em comprimento de fragmentos amplificados (AFLP), em comparação com diversidade genética total (HT = 0,086). Os autores sugerem que a adição de mais acessos de toda a

região nacional provavelmente aumentaria a variação genética disponível para os melhoristas de plantas.

Em 2011, um banco de germoplasma *in vivo* foi formado pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, em Serra Talhada, com acessos de *Desmanthus* spp., coletados em 11 municípios do Semiárido de Pernambuco (Queiroz, 2012). Vários trabalhos com avaliações agronômicas já foram realizados para seleção de acessos mais promissores (Albuquerque, 2013; Calado, 2015). Em 2012, a Universidade Federal Rural de Pernambuco formou outro banco de germoplasma com sementes dos acessos, coletadas do banco de germoplasma, em Serra Talhada, na Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no Município de Carpina - PE, em cujo espaço vem desenvolvendo estudos genéticos, incluindo avaliações morfológicas e nutritivas dos acessos (Diniz, 2016). Etapas fundamentais em programas de melhoramento de plantas, para obtenção de materiais promissores para lançamento comercial.

3.0. *Melhoramento genético em leguminosas forrageiras*

Entre as décadas de 1960 a 1980 ocorreu uma mobilização de vários países tropicais, na coleta e avaliação de leguminosas tropicais, em busca daquelas com potencial forrageiro semelhante ao das leguminosas temperadas, tendo como modelo a alfafa e o trevo (Miles, 2001; Shelton et al., 2005). Os materiais coletados foram alocados em bancos de germoplasma internacionais, principalmente no Centro Internacional de Agricultura Tropical, na Colômbia, e Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, na Austrália, e também na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, no Brasil (Valle et al., 2009). A diversidade de leguminosas tropicais aptas a serem utilizadas como forrageiras é muito maior do que de leguminosas temperadas (Kretschmer e Pitman, 2001).

Lançamentos de cultivares forrageiros provenientes de ecotipos coletados na natureza estão cada vez mais raros, dentre as causas estão os altos custos das expedições de

coleta, a erosão genética, a destruição dos ecossistemas e dos nichos ecológicos, a contaminação genética e o eminente esgotamento dos acessos existentes nos bancos de germoplasma. Em contrapartida, muitos dos acessos presentes em bancos de germoplasma necessitam de profundo estudo para conhecimento da demanda produtiva, acessos tolerantes a estresses biológicos, com alto valor nutritivo, aceitabilidade, persistência, estudos de avaliação de ecotipos; melhoramento clássico; melhoramento assistido por marcadores moleculares e transgenia, tudo que vise à importância do produto para lançamento no mercado pecuário.

Um programa de seleção e melhoramento de forrageiras deve obedecer a algumas etapas de estudo, dentre elas: possuir um banco de germoplasma com acessos identificados; avaliação agrônômica e fisiológica dos acessos através de ensaio de competição e cortes; avaliação de grandes parcelas sob pastejo, observando a palatabilidade e persistência; atividades correlatas, caracterização molecular e produção e tecnologia de sementes; ensaio com desempenho animal; e, por fim, a liberação do cultivar (Dall'agnol e Scheff-Basso, 2004). Além disso, a agregação da biotecnologia à seleção fenotípica e genotípica poderá exercer papel imprescindível para o melhoramento genético (Pereira, 2002).

Com isso, pode-se dizer que a variabilidade genética, seleção de indivíduos superiores e avaliação de materiais genéticos, promissores para lançamento comercial, são etapas fundamentais em programas de melhoramento de plantas, onde a essência está na eficiência do fenótipo, de um indivíduo, em expressar o seu genótipo, tendo, então, o uso de marcadores moleculares como auxiliares no melhoramento de plantas, acessando diretamente o genótipo de um indivíduo.

3.1. Uso de marcadores moleculares baseados em DNA em leguminosas forrageiras

Os marcadores moleculares permitem compreender a variabilidade genética das plantas, acessando a variabilidade ao nível de ácido desoxirribonucleico (DNA), que não é influenciado pelo ambiente. Permite a organização do germoplasma em *pools* gênicos (grupos de genótipos com características comuns dentro de uma espécie), facilitando a escolha e diminuindo o número de combinações a serem feitas pelo melhorista (Yamame, 2002).

Os marcadores moleculares se dividem em marcadores dominantes, quando o indivíduo heterozigoto não pode ser identificado na análise, por exemplo: Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), amplified fragment length polymorphism (AFLP); e marcadores codominantes, quando se pode identificar o indivíduo heterozigoto, por exemplo: restriction fragment length polymorphism (RFLP), microssatélites (Faleiro, 2007). Em leguminosas, os principais marcadores moleculares utilizados são do tipo: RAPD (“Random Amplified Polymorphic DNA”); Microssatélite (ou SSR - “Simple Sequence Repeats”); e AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).

Matida et al. (2013) utilizaram a técnica de polimorfismos de DNA amplificados ao acaso (RAPD) para caracterizar a variabilidade genética entre quatro acessos da espécie *Stylosanthes guianensis* (var. *guianensis*, var. *pauciflora*, var. *canescens* e var. *microcephala*), determinando suas inter-relações com acessos de variedades botânicas conhecidas. Já Santos et al. (2011) analisaram a tolerância e sensibilidade ao alumínio de 14 materiais de *Lotus corniculatus* L. por meio de marcadores microssatélites.

Dellagostin et al. (2011) realizaram um estudo, analisando a dissimilaridade genética de população segregante de soja para caracteres morfológicos de sementes, por meio de marcadores morfológicos e marcadores moleculares (AFLP, SSR e RAPD),

estimando a correlação entre as matrizes de dissimilaridade obtidas por meio da utilização das diferentes classes de marcadores. A população utilizada no estudo originou-se do cruzamento entre dois genótipos contrastantes para os caracteres do tegumento, a cultivar CD 202 (genitor feminino), com tegumento amarelo, e o genótipo TP (genitor masculino), com tegumento preto. Na geração F3, foram avaliados os caracteres morfológicos de cores do tegumento e do hilo, presença de derramamento de hilo, cor da pubescência e cor da flor. O estudo constatou que a utilização dos marcadores AFLP é mais eficiente em acessar a variabilidade genética da população, proporcionando a formação de maior número de grupos em relação aos demais marcadores. Onde, a matriz de dissimilaridade e o dendrograma, obtidos através de marcadores moleculares AFLP avaliados isoladamente, apresentam correlação positiva com a matriz de dissimilaridade e o dendrograma obtido por avaliação dos dados morfológicos.

O marcador AFLP é uma técnica baseada na amplificação de um subconjunto de fragmentos que são gerados a partir da combinação de enzimas de restrição de corte raro (ApaI, EcoRI, HindIII, PstI) e de corte frequente (MseI, TaqI), que clivam o DNA genômico em sítios específicos. Essa clivagem pode ser feita em apenas uma etapa, desde que se tenha disponível um tampão adequado para as duas enzimas (corte raro/corte frequente). Caso contrário, é necessário ser feito o procedimento em duas etapas, separadamente (Vos et al., 1995). A principal importância da utilização dessa combinação de enzimas é a digestão completa da molécula de DNA, evitando uma caracterização de falsos polimorfismos decorrente de uma digestão parcial, sendo essencial alta pureza do DNA amostral para o sucesso da digestão total, procedimento esse decorrente de um excelente método de extração e quantificação de DNA.

A técnica permite a análise de um grande número de locos polimórficos por reação, sendo então classificada como uma técnica de elevado conteúdo informativo. O marcador

AFLP tem a vantagem de não exigir o emprego de iniciadores de espécie específicos, sem exigir conhecimento prévio do genoma da espécie estudada, além de ser relativamente barata, fácil, rápida, confiável e permite a geração de uma grande quantidade de marcadores genéticos informativos num espaço de tempo relativamente curto. Dessa forma, sua acessibilidade pode ser classificada como elevada. A utilização de marcadores AFLP no mapeamento genético evidencia elevada repetibilidade (Vos et al., 1995). Contudo, a técnica apresenta como desvantagem a detecção apenas de um alelo por loco (presença/ausência). Entretanto, quando são utilizadas estratégias de mapeamento em que a progênie está segregando na proporção de 1:1, como as linhas endogâmicas recombinantes, os AFLPs são igualmente informativos aos marcadores co-dominantes (Vieira et al., 2006). Suas principais aplicações vão desde o mapeamento genético, à diversidade genética e *fingerprinting*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AJAYI, F.T.; BABAYEMI, O.J.; TAIWO, A.A. Effects of supplementation of *Panicum maximum* with four herbaceous forage legumes on performance, nutrient digestibility and nitrogen balance in West African dwarf goats. **Animal Science Journal**, v.79, p.673-679, 2008.
- ALBUQUERQUE, G.P. **Avaliação de acessos de *Desmanthus* e *Macroptilium* no semiárido Pernambucano**, 2013. (Dissertação de mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE., Recife – PE, 69f, 2013.
- ALIA, M. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline. In: ANNUAL USER MEETING OF THE FREE RADICAL RESEARCH FACILITY DARESBURY, 2003. Cheshire. **Proceedings...** Cheshire: Council for the Central Laboratory of the Research Councils, 2003.
- ANDRADE, A.P.; COSTA, R.G.; SANTOS, E.M.; SILVA, D.S. Produção animal no semiárido: o desafio de disponibilizar forragem, em quantidade e com qualidade, na estação seca. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.4, n.4, p.1-14, 2010.
- ARAÚJO FILHO, J.A.; CARVALHO, F.C.; SILVA, N.L. Fenología y valor nutritivo de follajes de algunas especies forrajeras de la caatinga. **Agroforesteria en las Americas**, v.9, n.1/4, p.33-34, 2002b.
- ARAÚJO FILHO, J.A.; GADELHA, J.A.; LEITE, E.R.; SOUZA, P.Z.; CRISPIM, S.M.A.; REGO, M.C. Composição botânica e química da dieta de ovinos e caprinos em pastoreio combinado na região de Inhamuns, Ceará. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.25, n.3, p.383-95, 1996.
- ARAÚJO FILHO, J.A. **Manipulação da vegetação lenhosa da caatinga para fins pastoris**. Sobral, CE: Embrapa-CNPC. (Circular Técnico) 1992. 18p.
- AZUHNWI, B.N.; THOMANN, B.; ARRIGO, Y.; BOLLER, B.; HESS, H.D.; KREUZER, M.; DOHME-MEIER, F. Ruminant dry matter and crude protein

degradation kinetics of five sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop) accessions differing in condensed tannin content and obtained from different harvests. **Animal Feed Science and Technology**, v.177, p.135-143, 2012.

BAHNISCH, G.A.; DATE, R.A.; BRANDON, N.J.; PITTAWAY, P. Growth responses of *Desmanthus virgatus* to inoculation with *Rhizobium* strain CB3126. I. A pot trial with 8 clay soils from central and southern Queensland. **Tropical Grasslands**, v.32, p.13–19, 1998.

BAJJI, M.; LUTTS, S.; KINET, J.M. Water deficit effects on solute contribution osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. **Plant Science**, v.160, n.4, p 669–681, 2001.

BAKKE, O.A; PEREIRA FILHO, J.M.; BAKKE, I.A.; CODÃO, M.A. Produção e utilização da forragem de espécies lenhosas da caatinga. In: GARIGLIO, M.A.; SAMPAIO, E.V.; Sá B.; CESTARO, L.A.; KAGEYAMA, P.Y. **Uso sustentável e conservação dos recursos florestais da caatinga**. Brasília: Serviço Florestal Brasileiro, 2010. p.160-179.

BEYHAUT, E.; CARABALLO, P.; ILLARZE, G.; SICARDI, M. Inter-cropped perennial legumes in commercial *Eucalyptus* spp. plantations enhance soil quality Agrociencia Uruguay, Special Issue, p.71-75, SILVA, D.S.; MEDEIROS, A.N. Eficiência do uso dos recursos da Caatinga: produção e conservação. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 2., 2003, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SINCORTE, 2003. p.571-582.

BEYHAUT, E.; DEHAAN, L.R.; BYUN, J.L.; SHEAFFER, C.C.; GRAHAM, P.H. Response to inoculation in *Illinois bundleflower*. **Canadian Journal of Plant Science**, v.86, p.919–926, 2006.

BRANDON, N.J.; DATE, R.A.; CLEM, R.L.; ROBERTSON, B.A.; GRAHAM, T.W.G. Growth responses of *Desmanthus virgatus* to inoculation with *Rhizobium* strain

- CB3126. II. A field trial at 4 sites in south-east Queensland. **Tropical Grasslands**, v.32, p.20–27, 1998.
- BURT, R.L. *Desmanthus*: A tropical and subtropical forage legume. Patr I. General review. **Herbage Abstracts**, v.63, p.401–413, 1993.
- CALADO, T.B. **Avaliações morfológicas e produtivas de genótipos de *Desmanthus* spp. sob diferentes intensidades de corte no semiárido Pernambucano**. 2015. (Dissertação de Mestrado) – Unidade Acadêmica de Serra Talhada/UFRPE. Serra Talhada – PE, ...P, 2015.
- CHAVES, M.M.; OLIVEIRA, M.M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**, v.55, n.407, p.2365-2384, 2004.
- CHAVES, M.M.; MAROCO, J.P.; PEREIRA, J.S. Understanding plant responses to drought — from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, v.30, n.3, p.239-264, 2003.
- COOK, B.G.; GRAHAM, T.W.; CLEM, R.L.; HALL, T.J.; QUIRK, M.J. (1993). Evaluation and development of *Desmanthus virgatus* on medium to heavy textured soils in Queensland. **Proceedings...** of the XVII International Grassland Congress, Rockhampton, 1993, v.3, 2148 – 2149p.
- CRUZ, S.E.S.B.S.; BEELEN, P.M.G.; SILVA, D.S.; PEREIRA, W.E.; BEELEN, R.; BELTRÃO, E.S. Caracterização dos taninos condensados das espécies maniçoba (*Manihot pseudoglazovii*), flor de seda (*Calotropis procera*), feijão bravo (*Capparis flexuosa*, L) e jureminha (*Desmanthus virgatus*). **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.4, p.1038-1044, 2007.
- DAUFRESNE, M.; RENAULT, O. Population fluctuations, regulation and limitation in stream-living brown trout. **Nordic Society Oikos**, n.113, p. 335-459, 2006.

- DATE, R.A. Nitrogen fixation in *Desmanthus*: strain specificity of *Rhizobium* and responses to inoculation in acidic and alkaline soil. **Tropical Grasslands**, v.25, p.47–55, 1991.
- DEHAAN, L.R.; EHLKE, N.J.; SHEAFFER, C.C.; MUEHLBAUER, G.J.; WYSE, D.L. *Illinois Bundleflower* Genetic Diversity Determined by AFLP Analysis. **Crop Science**, v.43, n.1, p.402-408, 2003.
- DALL'AGNOL, M.; SCHEFFER-BASSO, S.M. Utilização de recursos genéticos de leguminosas para ruminantes. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41. 2004. Campo Grande, **Anais...**, Campo Grande: SBZ/EMBRAPA Gado de corte, 2004. p. 115-129.
- DELLAGOSTIN, M.; HENNING, F.A.; MERTZ, L.M.; et al. Dissimilaridade genética em população segregante de soja com variabilidade para caracteres morfológicos de semente. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.4 p.689-698, 2011.
- DINIZ, W.P.S. **Caracterização morfológica e nutricional de acessos de *Desmanthus* spp. submetidos a duas intensidades de corte.** 2016. (Dissertação de Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE., Recife – PE, 81f, 2016.
- FALEIRO, F.G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007. 102p.
- FISCHBACH, J.A.; PETERSON, P.R.; EHLKE, N.J.; WYSE, D.L.; SHEAFFER, C.C. *Illinois bundleflower* forage potential in the upper midwestern USA: II. Forage Quality. **Agronomy Journal**, v.97, p.895–903, 2005.
- FORNAZERO, L.V.; PAPA, M.F.D.; LÓPEZ, J.L.; ALBICORO, F.J.; ZABALA, J.M.; TONIUTTI, M.A.; PENSIERO, J.F.; LAGARES, A. Phenotypic, Molecular and Symbiotic Characterization of the Rhizobial Symbionts of *Desmanthus paspalaceus* (Lindm.) Burkart That Grow in the Province of Santa Fe, Argentina. **Plos One (Public Library of Science)**, v.9, n.8, 2014.

FONTENELE, A.C. F.; ARAGÃO. W. M.; RANGEL III, J. H. A.; ALMEIDA, S. A. Leguminosas tropicais: *Desmanthus virgatus* (L.) Willd. uma forrageira promissora. **Revista Brasileira Agrociência**, v.15, n.1-4, p.121-123, 2009.

FREITAS, A.D.S.; SILVA, T.O.; MENEZES, R.S.C.; SAMPAIO, E.V.S.B.; ARAÚJO, E.R.; FRAGA, V.S. Nodulação e fixação de nitrogênio por forrageiras da caatinga cultivadas em solos do semiárido paraibano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.9, p.1856-1861, 2011.

FRUTOS, P.; HERVÁS, G.; RAMOS, G.; GIRÁLDEZ, F.J.; MANTECÓN, A.R. Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. **Animal Feed Science and Technology**, v.92, p.215-226, 2002.

GARDINER, C.P.; BURT, R.L. Performance characteristics of *Desmanthus virgatus* IN: contrasting tropical environments. **Tropical Grasslands**, v.29, n.3, p.183-187, 1995.

GARDINER, C.; PARKER, A. 2012. Steer liveweight gains on Progardes™ buffel pastures in Qld. **Proceedings...** of the 29th Biennial Conference of the Australian Society of Animal Production, Christchurch, New Zealand. July 2012.

GARDINER, C.; SWAN, S. 2008. Abandoned pasture legumes offer potential economic and environmental benefits in semiarid clay soil rangelands. **Proceedings...** of the Australian Range-land Conference, Charters Towers, Qld, Australia. 28th September–2nd October 2008.

GUIMARÃES-BEELLEN, P.M.; BERCHIELLI, T.T.; BEELEN, R.; MEDEIROS, A.N. Influence of condensed tannins from Brazilian semi-arid legumes on ruminal degradability, microbial colonization and enzymatic activity. **Small Ruminant Research**, v.61, p.35-44, 2006.

GUIMARÃES-BEELLEN, P.M.; BERCHIELLI, T.T.; BUDDINGTON, R.; BEELEN, R. Efeito dos taninos condensados de forrageiras nativas do semiárido nordestino sobre o

crescimento e atividade celulótica de *Ruminococcus flavefaciens* FD1. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, p.910-917, 2006.

GUNASEKARAN, S.; VISWANATHAN, K.; PASUPATHY, K.; RADHAKRISHNAN, L. Evaluation of Leguminous Fodders for Growth Performance in Weaned New Zealand White Rabbits. **International Journal Applied Science and Engineering**, v.1, n.1, p.10-12, 2013.

HUGHES, C.E.; BAILEY, C.D.; KROSNICK, S.; LUCROW, M.A. (2003). Relationships among genera of the informal *Dischroschys* and *Leucena* groups (*Mimosoideae*) inferred from nuclear ribosomal ITS sequences. In: B.B. Klitgaard and A. Bruneau (editors). **Advances in Legume Systematics**, part 10, Higher Level Systematics, pp. 221-238. Royal Botanic Gardens, Kew.

JONES, R.M.; BISHOP, H.G.; CLEM, R.L.; CONWAY, M.J.; COOK, B.G.; MOORE, K.; PENGELLY, B.C. Measurements of nutritive value of a range of tropical legumes and their use in legume evaluation. **Tropical Grasslands**, v.34, p.78- 90, 2000.

JONES, R.M.; BRANDON, N.J. Persistence and productivity of eight accessions of *Desmanthus virgatus* under a range of grazing pressures in subtropical Queensland. **Tropical Grasslands**, v.32, p.145–152, 1998.

JONES, R.M.; CLEM, R.L. The role of genetic resources in developing improved pastures in semi-arid and subhumid northern Australia. **Tropical Grasslands**, v.31, p.315–319, 1997.

KNAPP, A.K.; BRIGGS, J.M.; KOELLIKER, J.K. Frequency and extent of water limitation to primary production in a mesic temperate grassland. **Ecosystems**, v.4, p.19-28, 2001.

KRETSCHMER, A.E.JR; PITMAN, W.D. 2001. Germplasm resources of tropical forage legumes. In: Sotomayor-Rios A; Pitman WD, eds. **Tropical Forage Plants**. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 2001, 41–57p.

- KRUEGER, W.K.; GUTIERREZ-BANUELOS, H.; CARSTENS, G.E.; MIN, B.R.; PINCHAK, W.E.; GOMEZ, R.R.; ANDERSON, R.C.; KRUEGER, N.A.; FORBES, T.D.A. Effects of dietary tannin source on performance, feed efficiency, ruminal fermentation, and carcass and non-carcass traits in steers fed a high-grain diet. **Animal Feed Science and Technology**, v.159, p.1-9, 2010.
- LAWLOR D.H., CORNIC G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant, Cell and Environment**, v.25, p. 275-294. 2002.
- LIMA, H.C.; QUEIROZ, L.P.; MORIM, M.P.; SOUZA, V.C.; DUTRA, V.F.; BORTOLUZZI, R.L.C.; IGANCI, J.R.V.; FORTUNATO, R.H.; VAZ, A.M.S.F.; SOUZA, E.R.; FILARDI, F.L.R.; VALLS, J.F.M.; GARCIA, F.C.P.; FERNANDES, J.M.; MARTINS-DA-SILVA, R.C.V.; PEREZ, A.P.F.; MANSANO, V.F.; MIOTTO, S.T.S.; TOZZI, A.M.G.A.; MEIRELES, J.E.; LIMA, L.C.P. ; OLIVEIRA, M.L.A.A.; FLORES, A.S.; TORKE, B.M.; PINTO, R.B.; LEWIS, G.P.; BARROS, M.J.F.; SCHÜTZ, R.; PENNINGTON, T.; KLITGAARD, B.B.; RANDO, J.G.; SCALON, V.R.; CARDOSO, D.B.O.S.; COSTA, L.C.; SILVA, M.J.; MOURA, T.M.; BARROS, L.A.V.; SILVA, M.C.R.; QUEIROZ, R.T.; SARTORI, A.L.B.; CAMARGO, R.A. & LIMA, I.B. 2013. Fabaceae. *In*: Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB115>>. Acesso em: 18 Set. 2015.
- LIPLANG, N.; TUDSRI, S.; SOOKSATHAN, I.; LIMAROON, S.; NILAGUPTA, P. (2008) Effect of intercropping four legumes on the yields of the intercropped physic nut and soil properties in Pakchong District, Nakomrachasima. In: 46° Kasetsart University Annual Conference, Bangkok. **Proceedings...** Bangkok: Kasetsart University. 2008. 125-134p.
- LIU, G.D.; MICHALK, D.L.; BAI, C.J.; YU; D.G.; CHEN, Z.Q. Grassland development in tropical and subtropical southern China. **Rangeland Journal**, v.30, p.255-270, 2008.

- LUCKOW M (1993). Monograph of *Desmanthus* (Leguminosae-Mimosoideae). **Systematic Botany Monographs**, v.38, 166p. The American Society of Plant Taxonomists.
- MAKKAR, H.P.S. Effect and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**, v.49, p.241-256, 2003.
- MATINA, E.T.; CHIARI, L.; SIMEÃO, R.M.; FERNANDES, C.D.; ARGUELHO, E.G.; BOTH, D.P. Variabilidade genética de acessos da cultivar 'BRS Bela' de *Stylosanthes guianensis* usando marcadores moleculares RAPD. **Ciência Rural**, v.43, n.1, p.114-119, 2013.
- MCSWEENEY, C.S; GOUGH, J.; CONLAN, L.L.; HEGARTY, M.P.; PALMER, B.; KRAUSE, D.O. Nutritive value assessment of the tropical shrub legume *Acacia angustissima*: anti-nutritional compounds and in vitro digestibility. **Animal Feed Science and Technology**, v.121, p.175-190, 2005.
- MILES, J.W. (2001) Achievements and perspectives in the breeding of tropical grasses and legumes. In: 19º International Grassland Congress, São Pedro. **Proceedings... FEALQ - Fundação de Estudos Agrários Luiz de Querioz**. 2001. 509-515p.
- MOREIRA, J.N.; LIRA, M.A.; SANTOS, M.V.F.; FERREIRA, M.A.; ARAÚJO, G.G.L.; FERREIRA, R.L.C.; SILVA, G.C. Caracterização da vegetação de Caatinga e da dieta de novilhos no Sertão de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.11, p.1643-1651, 2006.
- MORIM, M. P.; LIMA, H. C. de. *Desmanthus* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB18496>>. Acesso em: 08 Set. 2015.

MONTEIRO, J.M.; LINS NETO, E.M.F.; AMORIM, E.L.C.; STRATTMANN, R.R.; ARAÚJO, E.L.; ALBUQUERQUE, U.P. Teor de taninos em três espécies medicinais arbóreas simpátricas da caatinga. **Revista Árvore**, v.29, n.6, 2005.

MUIR, J.P.; DUBEUX JR, J.C.B.; SANTOS, M.V.F.; MAPOSSE, I.C.; PITMAN, W.D.; BUTLER, T.J. Challenges to domesticating native forage legumes. **Tropical Grasslands – Forrajes Tropicales**, v.2, p.94-96, 2014.

MUIR, J.P. The multi-faceted role of condensed tannins in the goat ecosystem. **Small Ruminant Research**, v.98, p.115–120, 2011.

NAUMANN, H.D.; TEDESCHI, L.O.; MUIR, J.P.; LAMBERT, B.D.; KOTHMANN, M.M. Effect of molecular weight of condensed tannins from warm-season perennial legumes on ruminal methane production in vitro. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.50, p.154–162, 2013b.

NAUMANN, H.D.; MUIR, J.P.; LAMBERT, B.D.; TEDESCHI, L.O.; KOTHMANN, M. Condensed tannins in the ruminant environment: a perspective on biological activity. **Journal of Agricultural Sciences**, v.1, p.8–20, 2013a.

PENGELLY, B.C.; CONWAY, M.J. (1998). **The evaluation of tropical legumes for use in ley pastures in central and southern Queensland**. Proceedings of the 9th Australian Agronomy Conference, Wagga Wagga, 1998. Disponível em: <<http://www.regional.org.au/au/asa/1998/1/278pengelly.htm#TopOfPage>>. Acesso em: 18 de Set. 2015.

PENGELLY, B.C.; CONWAY, M.J. Pastures on cropping soils: which tropical pasture legume to use? **Tropical Grasslands**, v.34, p.162–168, 2000.

PENGELLY, B.C.; LIU, C.J. Genetic relationships and variation in the tropical mimosoid legume *Desmanthus* assessed by random amplified polymorphic DNA. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.48, p.91-99, 2001.

- PFISTER, J.A.; MALECHECK, J.C. Voluntary forage intake and nutrition of goats and sheep in the semiarid tropics of Northeastern Brazil. **Journal Animal Science**, v.63, p.1078–1086, 1986.
- PEREIRA, A.V. Avanços no melhoramento genético de gramíneas forrageiras tropicais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39. 2002. Recife, **Anais...**, Recife: SBZ/UFRPE, 2002. p. 19-41.
- PEREIRA, J.W.L.; MELHO FILHO, P.A.; ALBUQUERQUE, M.B.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; SANTOS, R.C. Mudanças bioquímicas em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico moderado. **Revista Ciência Agronômica**, v.43, n.4, p.766-773, 2012.
- PINHEIRO, C. CHAVES, M.M. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? **Journal of Experimental Botany**, v.62, n.3, p.869-882, 2011.
- QUEIROZ, I.V. **Ocorrência e germinação de sementes de *Desmanthus* sp. coletadas no semiárido pernambucano**. 2012. (Dissertação de Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco/UFRPE., Recife – PE, 80p, 2012.
- QUEIROZ, L.P. 2009. **Leguminosas da Caatinga**. Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana. 443p.
- RAMÍREZ-RESTREPO, C.A. 2004. **Nutritional studies on *Lotus corniculatus* containing condensed tannins to increase reproductive rate and lamb growth under commercial dryland farming conditions**. Thesis PhD, Massey University, Palmerston North, New Zealand.
- RAMÍREZ-RESTREPO, C.A.; BARRY, T.N. Alternative temperate forages containing secondary compounds for improving sustainable productivity in grazing ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v.120, p.179–201, 2005.

RAMÍREZ-RESTREPO, C.A.; BARRY, T.N.; LÓPEZ-VILLALOBOS, N.; KEMP, P.D.; HARVEY, T.G. Use of *Lotus corniculatus* containing condensed tannins to increase reproductive efficiency in ewes under commercial dryland farming conditions. **Animal Feed Science and Technology**, v.121, p.23–43, 2005a.

RAMÍREZ-RESTREPO, C.A.; BARRY, T.N.; MARRINER, A.; LÓPEZ-VILLALOBOS, N.; MCWILLIAM, E.L.; LASSEY, K.R.; CLARK, H. Effects of grazing willow fodder blocks upon methane production and blood composition in young sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.155, p.33–43, 2010a.

RAMÍREZ, R.G.; NEIRA-MORALES, R.R.; LEDEZMA-TORRES, R.A.; GARIBALDI-GONZÁLEZ. Ruminal degestion characteristics and effective degradability of cell wall of browse species from northeastern México. **Small Ruminant Research**, v.36, p.40-55, 2000.

RANGEL, J.H.A.; GARDINER, C.P. Stimulation of wool growth by *Desmanthus* spp. as a supplement to a diet of Mitchell grass hay. **Tropical Grasslands**, v.43, p.106–111, 2009.

REID, R. Pasture plant collecting in Mexico with emphasis on legumes for dry regions. **Australian Plant Introduction Review**, v.15, p.I-II, 1983.

REDDY, A.R.; CHAITANYA, K.V.; VIVEKANANDAN, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, v.161, n.11, p.1189-1202, 2004.

ROMERO, F.A.; DUARTE, J.H. Identification and nutritional valuation of frequently consumed plant species by sheep and goat grazing on the Tatacoa desert, Huila, Colombia. **Revista Agroforestería Netropical**, n.2, p.4-18, 2012.

SAMPAIO, E.V.S.B. Overview of the Brazilian caatinga. In: BULLOCK, S.H.; MOONEY, H.A.; MEDINA, E. (Ed.). **Seasonally Dry Tropical Forest**. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. p.35-63.

SANTOS, A.M.; AGNOL, M.D.; JANKE, A.; BORTOLINI, F.; HUBER, K.G.C. Análise da diversidade genética de cornichão com o uso de marcadores microssatélites. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.6, p.1188-1194, 2011.

SANTOS, G.R.A.; BATISTA, A.M.V.; GUIM, A.; SANTOS, M.V.F.; SILVA, M.J.A.; PEREIRA, V.L.A. Determinação da composição botânica da dieta de ovinos em pastejo na Caatinga. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.10, p.1876-1883, 2008.

SANTOS, M.V.F.; LIRA, M.A.; DUBEUX JÚNIOR, J.C.B.; GUIM, A.; MELLO, A.C.L.; CUNHA, M.V. Potential of Caatinga forage plants in ruminant feeding. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.204-215, 2010. (Supl. especial).

SCHLINK, A.C.; BURT, R.L. Assessment of the chemical composition of selected tropical legume seeds as animal feed. **Tropical Agriculture**, v.70, p.169-173, 1993.

SILVA, D.S.; MEDEIROS, A.N. Eficiência do uso dos recursos da Caatinga: produção e conservação. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 2., 2003, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SINCORTE, 2003. p.571-582.

SINGH, R.A.; BHATT, R.K.; GUPTA, S.; TRIPATHI, S.B. Economics of seed production of cultivated forages, grasses and range legume. **Range Management Society of India**, v.28, p.212-213, 2007.

SINSUWONGWAT, S.; NUNTAGIJ, A.; SHUTSRIRUNG, A.; NOMURA, M.; TAJIMA, S. Characterization of local rhizobia in Thailand and distribution of malic enzymes. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v.48, p.719-727, 2002.

SHELTON, H.M.; FRANZEL, S.; PETERS, M. Adoption of tropical legume technology around the world: analysis of success. In: McGilloway DA (Ed.) *Grassland: a global resource*. Wageningen, Academic Press. p.149-166, 2005.

SKERMAN, P.J.; CARMERON, D.G.; RIVEROS, F. **Tropical forage legumes**. 2nd ed. Food and Agricultural organization of the United Nations. Italy, 692P, 1988.

- SUKKASAME, P.; PHAIKAEW, C. **Utilization of *Desmanthus virgatus* as protein supplement for fattening cattle in southern Thailand.** Integrated Crop-Livestock production systems and fodder trees. p.157-159 Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/Newpub/PhilippineProceedings/sukkasame.pdf>> Acesso em: 12 de Nov. 2012.
- SUKSOMBAT, W; BUAKEEREE, K. Effect of cutting interval and cutting height on yield and chemical composition of hedge lucerne (*Desmanthus virgatus*). **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.19, n.1, p.31-34, 2006.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** Porto Alegre: Artmed, 3.ed., 2004. 719p.
- TEDESCHI, L.O.; CALLAWAY, T.R.; MUIR, J.P.; ANDERSON, R. Potential environmental benefits of feed additives and other strategies for ruminant production. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.291–309, 2011b.
- TISDALE, S. L.; NELSON, W. L.; BEATON, J. D. **Soil fertility and fertilizers.** 4. ed. New York: Macmillan, 1985. 754 p.
- TURNER, N.C. Further progress in crop water relations. In Advances in agronomy (D.L. Sparks, ed.). **Academic Press**, New York, p.293-337, 1997.
- VALLE, C.B.; JANK, L.; RESENDE, R.M.S. O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. **Revista Ceres**, v.56, n.4, p.460-472, 2009.
- VAN SOEST, P.J. 1994. **Nutritional ecology of the ruminant.** Comstock Publishing Associates, Ithaca, NY.
- VERSLUES, P.E.; SHARMA, S. Proline Metabolism and Its Implications for Plant-Environment Interaction. **The American Society of Plant Biologists**, v.8, 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3244962/>>. Acesso em: 02 Jan de 2016.

- VIEIRA, E.A.; NORADI, R.O.; CARVALHO, F.I.F.; et al. Mapeamento genético de caracteres quantitativos e sua interação com o ambiente. **EMBRAPA Cerrado**, (Documentos/ Embrapa Cerrados, ISSN 1517 – 5111; 170) p.28, 2006.
- VITTI, D.M.S.S.; NOZELLA, E.F.; ABDALLA, A.L.; BUENO, I.C.S.; SILVA, J.C.; COSTA, C.; BUENO, M.S.; LONGO, C.; VIEIRA, M.E.Q.; CABRAL, S.L.S. The effect of drying and urea treatment on nutritional and anti-nutritional components of browses collected during wet and dry seasons. **Animal Feed Science and Technology**, v.122, p.123-133, 2005.
- VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; van de LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v.23, n.21, p.4.407-4.414, 1995.
- VUTHIPRACHUMPAI, L., PHUNPHIPUT, W.; NAKMANEE, G. 1998. Effect of Nitrogen Fertilizer and Farm Manure Application Rates on Yield of *Desmanthus virgatus*. **Annual Research Project**. 195-210. Department of Livestock Development, Ministry of Agriculture and Cooperative, Bangkok.
- WAGHORN, G.C.; TAVENDALE, M.H.; WOODFIELD, D.R. Methanogenesis from forages fed to sheep. Proceedings of the New Zealand Grassland Association, **West Coast**, p.167–171, 2002.
- WHITTAKER, A.; MARTINELLI, T.; FARRANT, J.M.; BOCHICCHIO, A.; VAZZANA, C. Sucrose phosphate synthase activity and the co-ordination of carbon partitioning during sucrose and amino acid accumulation in desiccation-tolerant leaf material of the C4 resurrection plant *Sporobolus stapfianus* during dehydration. **Journal of Experimental Botany**, v.58, n.13, p.3775-3787, 2007.
- YAMADA, N.; MORISHITA, H.; URANO, K.; SHIOZAKI, N.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K.; YOSHIBA, Y. Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress. **Journal of Experimental Botany**, v.56, p.1975-1981, 2005.

YAMAME, R.S. Marcadores Moleculares. 2002. Disponível em: <www.ufv.br/dbg/trab2002/GMOL/GMOL_003.htm>. Acesso em: 16 Mai. 2015.

YANCEY P.H. Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. **Journal of Experimental Biology**, v.208, p.2819–2830, 2005.

YDOYAGA SANTANA, D.F.; LIRA, M.A.; SANTOS, M.V.F.; FERREIRA, M.A.; SILVA, M.J.A.; MARQUES, K.A.; MELLO, A.C.L.; SANTOS, D.C. Caracterização da caatinga e da dieta de novilhos fistulados, na época chuvosa, no semiárido de Pernambuco. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.1, p.69-78, 2011.

ZABALA, J.M.; PENSIERO, J.F.; TOMAS, P.A.; GIAVEDONI, J.A. Morphological characterization of populations of *Desmanthus virgatus* complex from Argentina. **Tropical Grasslands**, v.42; p.229–236, 2008.

ZAMORA, N.F.; MARTÍNEZ, R.M.; RUIZ, L.M.; GARCÍA, L.P. Yield and chemical composition of huizachillo (*Desmanthus virgatus* L. var. *depressus* Willd) forage in cultivation. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v.25, p.317–320, 2002.

ZOBAYED, S.M.A.; AFREEN, F.; KOZAI, T. Phytochemical and physiological changes in the leaves of St John's wort plants under a water stress condition. **Environmental and Experimental Botany**, v.59, n.2, p. 109-116, 2007.

CAPÍTULO 2

Variabilidade genética em acessos de *Desmanthus* spp.

Variabilidade genética em acessos de *Desmanthus* spp.

Resumo - Estudos de variabilidade genética de plantas forrageiras são importantes para conservação de seus recursos. Objetivou-se estudar a variabilidade genética, através da técnica de polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados (AFLP) de acessos de *Desmanthus* spp. Foram utilizadas sementes de quatro acessos de *Desmanthus pernambucanus* (43F, 89F, 100C e 7G), provenientes do banco de germoplasma da UFRPE, em Serra Talhada-PE, e um acesso *Desmanthus pubescens* (AusTRC), proveniente da Embrapa Tabuleiros Costeiros - Sergipe. Das 38 combinações de iniciadores testadas para caracterizar cinco indivíduos do gênero, 32 combinações amplificaram 707 fragmentos, dos quais 436 (62%) foram polimórficos e 271 (38%) monomórficos, evidenciando a grande variabilidade existente entre os acessos avaliados. A matriz de distância genética de NEI (1978), revelou que os acessos 89F e AusTRC pertencentes a espécies distintas e oriundos de locais diferentes, Bom Jardim e Saint Croix (EUA), respectivamente, apresentaram menor distância genética (33,5%). Acessos 43F e 100C pertencentes à mesma espécie oriundas dos municípios de Bom Jardim e Sertânia, respectivamente, apresentam maior distância genética (57%). Os acessos mais próximos geograficamente (43F e 89F) e pertencentes à espécie de *D. pernambucanus* apresentam alta distância genética (0,6303), o que está associada a uma variação intraespecífica. O conhecimento da variabilidade genética, apresentada pelos acessos 7G, 100C, 89F, 43F e AusTRC através do alto polimorfismo, evidencia a eficiência da técnica de AFLP em espécies de *Desmanthus* spp., trazendo uma contribuição útil para futuros estudos de programa de cruzamentos e confirma a importância da conservação desses genes.

Palavras-chave: AFLP, diversidade genética, leguminosas nativas, recurso genético.

Genetic variability of *Desmanthus* spp. accessions

Abstract—Forage genetic variability studies are important for the conservation of these resources. The objective was to study the genetic variability through amplified fragment length polymorphism (AFLP), of *Desmanthus pernambucanus* (43F, 89F, 100C, and 7G) from the UFRPE germplasm bank in Serra Talhada-PE, and *Desmanthus pubescens* AusTRC, from Embrapa Tabuleiros Costeiros –Sergipe. Of the 38 primers tested, 32 combinations amplified 707 fragments, of which 436 (62%) were polymorphic and 271 (38%) monomorphic, indicating a wide variability among the five accessions. NEI genetic distance matrix indicated that 89F and AusTRC, distinct species collected from different locations (Bom Jardim and Saint Croix, USA, respectively), had less genetic distance (33.5%) compared to 43F and 100C belonging to *D. pernambucanus* but collected in Bom Jardim and Sertânia, with 57% distance. The geographically closest *D. pernambucanus* accessions, 43F and 89F, had the greatest genetic distance (63%). Understanding the genetic variability among these accessions from the polymorphism provides a basis for future breeding programs and confirms the importance of the conservation of these genes.

Key words: AFLP, genetic diversity, native legumes, genetic resource.

Introdução

O gênero *Desmanthus*, pertencente à família *Fabaceae*, inclui 23 espécies naturalmente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais das Américas, com maior diversidade no México (14 espécies) e sul do Texas, EUA (8 espécies) (Lucrow, 1993; Muir et al., 2014). A característica de leguminosa permite considerá-la fonte alternativa de alimento para ruminantes, principalmente, em áreas Semiáridas (Suksombat e Buakeeree, 2006; Cruz et al., 2007; Rangel e Gardiner, 2009; Sukkasame e Phaikaew, 2012). A sua associação a bactérias da família *Rhizobiaceae* fixadoras de nitrogênio (Date, 1991; Beyhaut et al., 2003; Beyhaut et al., 2006; Freitas et al., 2011; Diniz, 2016), permite o cultivo consorciado desta leguminosa a cultivares de baixa eficiência de fixação de nitrogênio.

A maioria das espécies *Desmanthus* spp. é diplóide com $2n = 28$ cromossomos (Turner e Beaman, 1953; Hughes et al., 2003). Estudos mais recentes de Santos et al. (2012) citam a espécie *Desmanthus pernambucanus* com $2n = 26$ cromossomos; apresenta elevado grau de polimorfismo intra e interespecífico (Lucrow, 1993; Gardiner e Burt, 1995; Hughes et al., 2003), e considerando a importância da variabilidade genética como fonte de genes de interesse, fica claro a importância da conservação das espécies. Assim, a coleta e manutenção de um conjunto representativo de genótipos de *Desmanthus* spp. em bancos de germoplasma são fundamentais para minimizar os efeitos causados, por exemplo, pela perda de variabilidade genética. Com isso, informações sobre o desenvolvimento e a variação genética das espécies, principalmente das nativas, são fundamentais, para a domesticação e a incorporação dessas espécies nos sistemas produtivos da região, assim como para o desenvolvimento de estratégias de conservação eficientes, o que estão estreitamente relacionadas ao conhecimento da magnitude e da distribuição da variabilidade genética nas populações naturais.

Assim, para caracterização da variabilidade genética do DNA de plantas contida em bancos de germoplasma são utilizados estudos com marcadores moleculares. Alguns marcadores detectam o polimorfismo genético diretamente no ácido desoxirribonucleico (DNA), sem influência do ambiente. O marcador molecular baseado no polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados (AFLP) tem sido bastante utilizado atualmente em estudos de diversidade genética. Isso se deve à capacidade deste marcador em acessar a variabilidade em nível de DNA (Vos et al., 1995). Os marcadores AFLPs associam polimorfismos relacionados a sítios de enzimas de restrição e à capacidade de detecção pela técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). A grande vantagem da técnica diz respeito ao elevado número (de dezenas, até centenas) de marcadores obtidos por combinação de *primers* e a não necessidade de se conhecer as sequências a serem amplificadas, possibilitando estimar a variabilidade genética presente entre acessos de *Desmanthus* spp, visto que não existe *primers* específico, disponível no banco de dados, e marcadores mais específicos.

A determinação e a compreensão da variabilidade genética existente em bancos de germoplasma são o ponto de partida para o pré-melhoramento e melhoramento genético, e para que essa variabilidade seja aproveitada de forma prática, faz-se necessário a caracterização mais ampla possível. Dessa forma, tal estudo é de grande valia, pois fornece informação sobre a variabilidade genética, podendo indicar a necessidade de intercâmbio e introdução de novos genótipos. Assim, objetivou-se estudar a variabilidade genética, através da técnica de AFLP, de cinco acessos de *Desmanthus* spp. do Banco de Germoplasma, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no laboratório de Genética Molecular da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Foram utilizadas sementes de cinco acessos de *Desmanthus* spp., dos quais quatro acessos (7G, 100C, 43F e 89F) são da espécie *Desmanthus pernambucanus* (classificada pelo herbário do Instituto Agrônômico de Pernambuco, Fomento Internacional do Brasil LTDA (FIB) nº02/2012), provenientes do Banco de germoplasma da Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE, localizado em Serra Talhada-PE, coletados nos municípios de Santa Cruz do Capibaribe, Sertânia e Bom Jardim (Queiroz, 2012), e um acesso proveniente da Embrapa Tabuleiros Costeiros - Sergipe (oriundo do Banco de germoplasma da Austrália - CSIRO, AusTR), identificado como *Desmanthus pubescens* B. L. Turner (Tabela 1).

Tabela 1. Relação dos acessos de *Desmanthus* spp. avaliados, com as respectivas procedências e coordenadas geográficas.

Identificação	Procedência	Latitude	Longitude	Tipo de solo
100C*	Sertânia – Brasil (BR)	08°04'	37°18'	LUV
43F*	Bom Jardim – BR	07°47'	35°32'	AVE
89F*	Bom Jardim – BR	07°50'	35°41'	VER
7G*	Santa Cruz do Capibaribe - BR	07°50'	36°22'	NR
AusTRC**	Virgin Islands (U.S.) - CSIRO	18°08'	61°68'	-

*Queiroz (2012), **AusPGRIS – Australian Plant Genetic Resource Information Service (http://www2.dpi.qld.gov.au/extra/asp/AusPGRIS/Scripts/Display_Accession.asp?theAccession=AusTRCF92803). LUV= luvisolo; AVE= argissolo vermelho escuro; VER= vertissolo; NR= neossolo regolítico.

O baixo número de acessos utilizados no estudo se deve à baixa sobrevivência das plantas no banco de germoplasma *in vivo*. A propagação foi feita por sementes submetidas à quebra de dormência por desponte (corte com tesoura na região oposta ao hilo da semente) (Queiroz, 2012) e semeadas em vasos (3 kg). Após 30 dias de desenvolvimento das plantas (5 plantas/acesso), em Agosto de 2014, foram coletadas 200 mg de folhas jovens, para a extração do DNA, maceradas em nitrogênio líquido em gral de porcelana, tendo-se adicionado, em seguida, 800 µL de tampão de extração (2% de CTAB – brometo

de cetil trimetil amônio e 20 μ L de β -mercaptoetanol) proposto por Doyle & Doyle (1991) e modificado por Silva et al. (2008).

Para eliminação dos contaminantes presentes no DNA, realizou-se extração orgânica com clorofórmio:álcool isoamílico 24:1 e lavagem com acetato de amônio (ou acetato de sódio 3 M) a 7,5 M e álcool etílico a 95% (1:6). O DNA precipitado pela desidratação foi lavado do excesso de sal com etanol a 75%. O DNA precipitado foi diluído em 100 μ L de TE (Tris-HCl 10 mM, pH 8.0, EDTA 1 mM), quantificado em gel de agarose 0,8% corado com solução de 0,02% de brometo de etídio (10 mg/ml) e visualizado em transiluminador de luz ultravioleta. As reações de AFLP foram desenvolvidas utilizando-se o kit AFLP[®] Analysis System I (Life Technologies[®]), conforme instruções do fabricante. Em resumo, após a digestão com as enzimas *EcoRI* e *MseI* e ligação dos oligonucleotídeos adaptadores, o DNA foi amplificado utilizando iniciadores com três bases seletivas (*EcoRI*-NNN e *MseI*-NNN), sendo que para os iniciadores, cada N corresponde a uma base: A, C, T ou G. As reações PCR foram realizadas em termociclador PTC-100 (MJ Research), seguindo instruções do *kit*.

A visualização dos resultados foi realizada após a eletroforese em gel de poliacrilamida 6%, em condição desnaturante (7M de uréia), em cuba vertical do tipo para sequenciamento, com tampão de corrida TBE 1x. A coloração do gel com nitrato de prata seguiu o protocolo descrito por Bassam et al. (1991). O resultado foi convertido em uma matriz binária, com base na presença (1) ou ausência (0) do fragmento. A percentagem de locos polimórficos e o número ótimo de fragmentos foram calculados com o auxílio do programa Genes (Cruz, 2006). Dados de número total de alelos (N_a), número efetivo de alelos (N_e) e heterozigidade (H_e), foram realizados utilizando o programa estatístico PopGene 1.31, assim como formação do dendrograma da distância genética baseado em Nei (1978), com base no agrupamento UPGMA ("unweighted pair group method using

Queiroz, I.V. *Variabilidade genética e caracterização morfológica, produtiva e qualitativa de acessos de Desmanthus spp.*

arithmetic averages"), obtido pelo mesmo pacote estatístico PopGene 1.31, para os diferentes acessos de *Desmanthus* spp.

Resultados e Discussão

Das 38 combinações de *primer* testadas para caracterizar cinco indivíduos do gênero *Desmanthus*, 32 combinações amplificaram 707 fragmentos (Tabela 2), dos quais 436 (62%) foram polimórficos (presença ou ausência de banda em ao menos um dos acessos) e 271 (38%) comuns aos cinco acessos (Figura 1), o que evidenciou a variabilidade existente entre os acessos e o poder de detecção de polimorfismos apresentado pela técnica AFLP em *Desmanthus* spp.

Cada par de *primers* produziu entre um e 33 fragmentos polimórficos distinguíveis, com uma média de 14 fragmentos polimórficos por par de *primer*, enquanto que o total de fragmentos amplificados variou de três a 52 bandas, com média de 22 por combinação de *primers* (Tabela 2). A combinação de *primers* E-AAC / M-CTT foi a que apresentou o maior número de fragmentos amplificados e polimórficos, já a combinação E-AAC / M-CAA não apresentou número de fragmentos polimórficos (Tabelas 2).

Das 38 combinações de *primer* AFLPs testadas, seis combinações não amplificaram, E-AGC / M-CAG; E-ACC / M-CTT; E-ACC / M-CAT; E-ACT / M-CTC; E-ACT / M-CTA; E-ACT / M-CAT.

Tabela 2. Totais de bandas amplificadas e polimórficas por iniciadores AFLP obtidos com DNAs de cinco acessos de *Desmanthus* spp.

Iniciadores*	Total de bandas amplificadas	Total de fragmentos polimórficos	Polimorfismo (%)
E-ACG + M-CAA	34	25	74
E-ACG + M-CTC	28	16	57
E-ACG + M-CTG	38	32	84
E-ACG + M-CTT	24	09	38
E-ACG + M-CTA	20	14	70
E-ACG + M-CAG	13	10	77
E-ACG + M-CAT	17	16	94
E-AGC + M-CTC	15	09	60
E-AGC + M-CTG	03	02	67
E-AGC + M-CTT	35	30	86
E-AGC + M-CTA	05	02	40
E-AGC + M-CAT	11	05	45
E-AGC + M-CAC	07	01	14
E-ACC + M-CAA	15	11	73
E-ACC + M-CTC	13	06	46
E-ACC + M-CTG	20	09	45
E-ACC + M-CTA	23	13	56
E-ACC + M-CAG	27	07	26
E-ACC + M-CAC	33	18	55
E-AAC + M-CAA	07	00	00
E-AAC + M-CTC	25	16	64
E-AAC + M-CTG	10	06	60
E-AAC + M-CTT	52	33	63
E-AAC + M-CTA	20	08	40
E-AAC + M-CAG	22	13	59
E-AAC + M-CAT	24	24	100
E-AAC + M-CAC	21	21	100
E-ACT + M-CAA	40	13	33
E-ACT + M-CTG	26	14	35
E-ACT + M-CTT	32	17	53
E-ACT + M-CAG	25	23	92
E-ACT + M-CAC	22	13	59
TOTAL	707	436	62
Média	22	14	

*Bases seletivas que iniciam com A são referentes aos 'primers' para EcoRI e aquelas com C são de MseI.

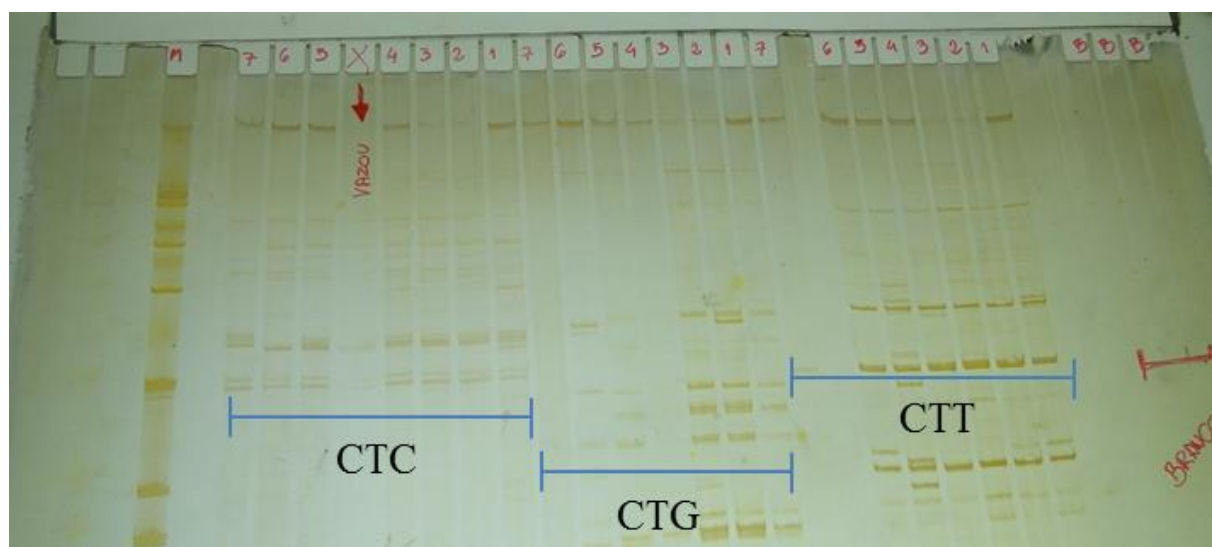


Figura 1. Exemplo de fragmentos amplificados (polimórficos e monomórficos) nos cinco acessos de *Desmanthus* spp., visualizados em gel de poliacrilamida 6%. *1 = 7G; 2 = 100C; 3 = 89F; 4 = NSDD; 5 = AusTRC; 6 = 43F; 7 = 21F. **NSDD e 21F não foram utilizados por problema na execução. ***CTC = M-CTC; CTG = M-CTG; CTT = M-CTT.

Com base no nível de polimorfismo alcançado, será possível discriminar genótipos em nível de DNA, planejando cruzamentos em melhoramento genético, levando-se em consideração o desempenho agrônômico dos genitores nas fases mais avançadas de seleção e experimentação. Pengelly e Liu (2001), avaliando 284 acessos de *Desmanthus* spp., equivalente a 11 espécies, a partir de análises com marcadores Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), observaram que houve maior polimorfismo em *D. virgatus*, *D. leptophyllus* e *D. pernambucanus*, em relação ao *D. pubescens*. O maior número de acessos trabalhados pelos autores levou a resultados de comparação por espécies, diferentemente deste estudo com apenas cinco acessos, o que evidencia a questão de se intensificar os trabalhos com maior número de acessos e de diferentes espécies, possibilitando fazer comparações diante dos acessos presentes no BAG. Há de se ressaltar a dificuldade de manter, em condições de semiárido, banco de germoplasma vivo, o que limita a disponibilidade de acessos para avaliação.

Com a matriz de distância genética de Nei (1978), que mede a diversidade genética entre diferentes espécies ou indivíduos da mesma espécie, entre os cinco acessos amostrados, foi construído um dendrograma pelo método UPGMA (Figura 2).

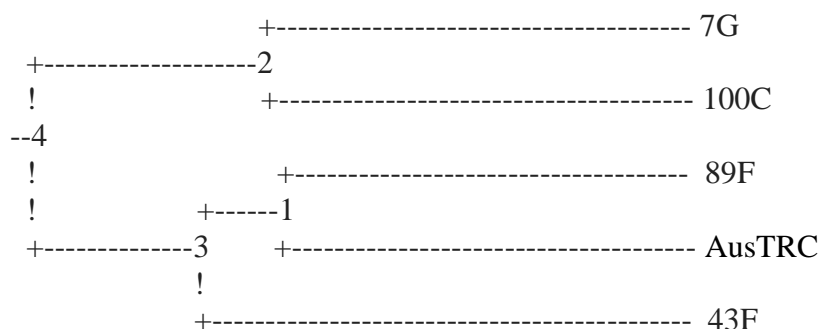


Figura 2. Dendrograma considerando acessos de *Desmanthus* spp.

A distância genética média entre os acessos de *Desmanthus* sp. foi de 45%. A menor distância genética (Nei, 1978) ocorreu entre os acessos 89F e AusTR (33,5%), oriundos de Bom Jardim e Saint Croix (EUA), respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Identidade genética (Ig) e distância genética (Dg) em cinco acessos de *Desmanthus* spp.

Acessos	7G	100C	89F	AusTRC	43F
7G	****	0,7068	0,6133	0,5836	0,5807
100C	0,3470	****	0,6997	0,6190	0,5652
89F	0,4889	0,3571	****	0,7153	0,6303
AusTRCF92803	0,5386	0,4797	0,3351	****	0,6997
43F	0,5435	0,5707	0,4615	0,3571	****

*Identidade genética: valores acima da diagonal; distância genética: valores abaixo da diagonal.

A maior distância foi observada entre os acessos 43F e 100C (57%), oriundos de Bom Jardim e Sertânia, respectivamente. A matriz de identidade genética mostrou a faixa de similaridade, variando de 56,5% a 71,5% entre os acessos. Esses valores indicaram que os acessos 89F e AusTRC foram os mais semelhantes geneticamente (Ig: 0,7153), o que não quer dizer que pertençam à mesma espécie.

Esses resultados indicam que, apesar da proximidade de onde foram realizadas as coletas, existe alta variabilidade entre os acessos, apesar de serem espécies com reprodução

autógama (Lucrow, 1993). Contudo, Pillar (1994) menciona que plantas autógamas possuem menor variabilidade intrapopulacional que é distribuída entre as populações em maiores escalas do que nas espécies de reprodução alógama. De acordo com Allard e Workman (1971), as plantas autógamas mostram ser mais diferenciadas geograficamente, mesmo em escala microgeográfica.

A presença da variabilidade genética dos acessos possibilita adaptação às mudanças ambientais (Daufresne e Renault, 2006), o que ressalta a importância da preservação dos acessos do gênero *Desmanthus*, mediante a constituição de bancos de germoplasma, tanto do ponto de vista da conservação biológica como da aplicação no melhoramento genético.

A variação genética, usando os marcadores AFLP quanto à frequência alélica, número efetivo de alelos (Kimura e Crow, 1964) e diversidade genética de Nei (1973) (Tabela 4), permitiu observar que o número médio de alelos foi de 1,70, e o número médio efetivo de alelos, que contribuiu para a diversidade genética, foi de 1,51. Segundo Nei (1978), o número médio de alelos por loco (A) é muito influenciado pelo tamanho da amostragem genética (número de loco) na coleta. A heterozigosidade (h), também chamada de índice de diversidade genética de Nei, foi usada para avaliar o conteúdo polimórfico de cada loco e obteve-se um valor de 0,29. Esse valor indica baixo conteúdo polimórfico, contudo, o baixo conteúdo de informação genética por loco é uma das limitações do AFLP, por ser essencialmente dominante (Ferreira e Grattapaglia, 1998). Essa limitação seria superada com uso de marcadores moleculares dos tipos microssatélite ou SSR (*Simple Sequence Repeats*), que são de natureza codominante (Ferreira e Grattapaglia, 1998). Entretanto, para se gerar marcadores SSR, há necessidade de *primers* específicos, desenhados com base em sequências oriundas de bibliotecas SSR ou de ESTs (*Expressed Sequence Tags*) disponíveis, o que não é a realidade do gênero, ainda pouco estudado molecularmente, pois conta com menos de uma centena de sequências

nucleotídicas depositadas na base de dados NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), conforme levantamento feito em novembro de 2015.

Tabela 4. Estimativas do número de alelos e diversidade genética para os 707 marcadores AFLP nos cinco acessos de *Desmanthus* spp.

Parâmetro	Coleção núcleo (CN)	
	Média	Desvio
Número de alelos observados (Na)	1,70	0,46
Número de alelos efetivos (Ne)	1,51	0,38
Heterozigosidade (H)	0,29	0,20

Em contra partida, a heterozigosidade observada é um índice de diversidade genética muito influenciada pelo sistema reprodutivo da espécie. Uma população natural de espécie alógama apresenta maior heterozigose do que uma população de espécie autógena. Autores como Weir (1996) e Nei (1973) consideram a frequência de heterozigotos um importante indicador de diversidade genética, pois cada heterozigoto carrega alelos diferentes, representando melhor a variação existente tanto em populações de espécies autógenas como alógamas.

Conclusões

Os acessos 7G; 100C; 89F; 43F e AusTRC apresentam alto polimorfismo evidenciando a eficiência da técnica de AFLP em avaliar a variabilidade genética dos acessos de *Desmanthus* spp.

A distância genética não é limitada pela distância geográfica, uma vez, que acessos geograficamente próximos e pertencentes à mesma espécie (89F e 43F) não apresentam semelhanças genéticas, assim, como acessos geograficamente distantes e de espécies diferentes (89F e AusTRC) podem apresentar semelhanças genéticas.

Agradecimentos

Ao Professor Éderson Kido, e seus alunos Neto, Manassés Daniel, Amanda e toda equipe do laboratório de Genética Molecular da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, pelo apoio nas análises de extração e avaliação de DNA das plantas de *Desmanthus* spp. Ao CNPq, FACEPE e CAPES, pelo suporte financeiro a esta pesquisa.

Referências Bibliográficas

- AFLP Plant mapping: protocol. Perkin-Elmer Corporation, California, 1997. 45 p.
- ALLARD, R.W.; WORKMAN, P.L. Population studies in predominantly self-pollinated species; IV. Seasonal fluctuations in estimated value of genetic parameters in lima bean populations. **Evolution**, v.17, p.80-470, 1971.
- BASSAM, B.J.; CAETANO-ANOLLÉS, G.E.; GRESSHOFF, P.M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. **Analytical Biochemistry**., 1991. vol.196, issue 1, p. 80-83.
- BEYHAUT, E.; CARABALLO, P.; ILLARZE, G.; SICARDI, M. Inter-cropped perennial legumes in commercial *Eucalyptus* spp. plantations enhance soil quality Agrociencia Uruguay, Special Issue, p.71-75, SILVA, D.S.; MEDEIROS, A.N. Eficiência do uso dos recursos da Caatinga: produção e conservação. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 2., 2003, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SINCORTE, 2003. p.571-582.
- BEYHAUT, E.; DEHAAN, L.R.; BYUN, J.L.; SHEAFFER, C.C.; GRAHAM, P.H. Response to inoculation in *Illinois bundleflower*. **Canadian Journal of Plant Science**, v.86, p.919–926, 2006.
- CRUZ, C.D. **Programa genes**: biometria. Viçosa, MG: Editora UFV, 2006. 382p.
- CRUZ, S.E.S.B.S.; BEELEN, P.M.G.; SILVA, D.S.; PEREIRA, W.E.; BEELEN, R.; BELTRÃO, E.S. Caracterização dos taninos condensados das espécies maniçoba (*Manihot pseudoglazovii*), flor de seda (*Calotropis procera*), feijão bravo (*Capparis flexuosa*, L) e jureminha (*Desmanthus virgatus*). **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.4, p.1038-1044, 2007.
- DAUFRESNE, M.; RENAULT, O. Population fluctuations, regulation and limitation in stream-living brown trout. **Oikos**, n.113, p.335-459, 2006.

- DATE, R.A. Nitrogen fixation in *Desmanthus*: strain specificity of *Rhizobium* and responses to inoculation in acidic and alkaline soil. **Tropical Grasslands**, v.25, p.47–55, 1991.
- DINIZ, W.P.S. **Caracterização morfológica e nutricional de acessos de *Desmanthus* spp. submetidos a duas intensidades de corte**. 2016. (Dissertação de Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE., Recife – PE, 81f, 2016.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3 ed. Brasília: Embrapa-CENARGEN, 1998. 220 p. (Embrapa-CENARGEN. Documentos, 20).
- FREITAS, A.D.S.; SILVA, T.O.; MENEZES, R.S.C.; SAMPAIO, E.V.S.B.; ARAÚJO, E.R.; FRAGA, V.S. Nodulação e fixação de nitrogênio por forrageiras da caatinga cultivadas em solos do semiárido paraibano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.9, p.1856-1861, 2011.
- GARDINER, C.P.; BURT, R.L. Performance characteristics of *Desmanthus virgatus* IN: contrasting tropical environments. **Tropical Grasslands**, v.29, n.3, p.183-187, 1995.
- HUGHES, C.E.; BAILEY, C.D.; KROSNICK, S.; LUCROW, M.A. (2003). Relationships among genera of the informal *Dischroschys* and *Leucena* groups (*Mimosoideae*) inferred from nuclear ribosomal ITS sequences. In: B.B. Klitgaard and A. Bruneau (editors). **Advances in Legume Systematics**, part 10, Higher Level Systematics, pp. 221-238. Royal Botanic Gardens, Kew.
- KIMURA, M.; CROW, J. F. The measurement of the effective population number. **Evolution**, v.17, n.3, p.279-288, 1964.
- LUCKOW M (1993). **Monograph of *Desmanthus* (Leguminosae-Mimosoideae)**. Systematic Botany Monographs, v.38, 166p. The American Society of Plant Taxonomists, v.38, p.166, 1993.

MUIR, J.P.; DUBEUX JR, J.C.B.; SANTOS, M.V.F.; MAPOSSE, I.C.; PITMAN, W.D.; BUTLER, T.J. Challenges to domesticating native forage legumes. **Tropical Grasslands – Forrajes Tropicales**, v.2, p.94-96, 2014.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v.89, p.583-590, 1978.

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, v.70, n.12, p.3321-3323, 1973.

PENGELLY, B.C.; LIU, C.J. Genetic relationships and variation in the tropical mimosoid legume *Desmanthus* assessed by random amplified polymorphic DNA. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.48, p.91-99, 2001.

PILLAR, V.D.P. Estratégias adaptativas e padrões de variação da vegetação. UFRGS, Departamento de Botânica, 1994. 6f. Ao prelo. Disponível em: <http://www.ecoqua.ecologia.ufrgs.br/arquivos/Reprints&Manuscripts/Manuscripts&Misc/4_Descricao_96Out07.pdf> Acesso em: 12 Mai 2015.

QUEIROZ, I.V. **Ocorrência e germinação de sementes de *Desmanthus* sp. coletadas no semiárido pernambucano**. 2012. (Dissertação de mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE., Recife - PE. 65p. 2012.

RANGEL, J.H.A.; GARDINER, C.P. Stimulation of wool growth by *Desmanthus* spp. as a supplement to a diet of Mitchell grass hay. **Tropical Grasslands**, v.43, p.106–111, 2009.

SANTOS, E.C.X. R.; CARVALHO, R.; ALMEIDA, E.M.; FELIX, L.P. Chromosome number variation and evolution in Neotropical *Leguminosae* (*Mimosoideae*) from northeastern Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v.11, n.3, p.2451-2475, 2012.

SILVA, A.V.C.; RANGEL, J.H.A.; MUNIZ, E.N.; RANGEL, S.; SANTOS, A.R.F.; ARAGÃO, W. M. Variabilidade genética entre acessos de jureminha (*Desmanthus virgatus* (L.) Wild). In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 5.;

SIMPÓSIO NORDESTINO DE ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES, 11.;
SIMPÓSIO SERGIPANO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 1. 2008, Aracaju. **Anais...**
Aracaju: Sociedade Nordestina de Produção Animal; Embrapa Tabuleiros Costeiros,
2008. Forragicultura. 1 CD-ROM.

SUKKASAME, P.; PHAIKAEW, C. **Utilization of *Desmanthus virgatus* as protein supplement for fattening cattle in southern Thailand.** Integrated Crop-Livestock production systems and fodder trees. p.157-159 Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/Newpub/PhilippineProceedings/sukkasame.pdf>>. Acesso em: 12 Nov. 2012.

SUKSOMBAT, W; BUAKEEREE, K. Effect of cutting interval and cutting height on yield and chemical composition of hedge lucerne (*Desmanthus virgatus*). **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.19, n.1, p.31-34, 2006.

TURNER. B.L.: BEAMAN, J.H. Chromosome complements in *Desmanthus*. **Field and laboratory**, Dallas, v.21, p.42-M, 1953.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; Van de LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v.23, n.21, p.4.407-4.414. 1995.

WEIR, B.S. **Genetic data analysis II: methods for discrete population genetic data.** Sunderland, Massachussets: Sinauer Associates Inc, p.192, 1996.

CAPÍTULO 3

Avaliação morfológica, produtiva e química de *Desmanthus* spp. submetidos a suspensão hídrica

Avaliação morfológica, produtiva e química de *Desmanthus* spp. submetidos a suspensão hídrica

Resumo – A disponibilidade hídrica é uma das principais limitações para o crescimento, produtividade das plantas. Objetivou-se avaliar aspectos morfológicos, produtivos e químicos de dois acessos de *Desmanthus pernambucanus* (43F e 89F) e um acesso de *Desmanthus* spp. (AusT), submetidos a dois períodos de suspensão hídrica de 7 e 21 dias, em casa de vegetação, em blocos ao acaso, em esquema fatorial 3 x 2 (acesso e suspensão hídrica) com quatro repetições, durante 252 dias. O valor $P \leq 0,05$ foi considerado significativo. A suspensão hídrica interferiu nas características morfológicas, produtivas e químicas dos acessos de *Desmanthus* spp. O acesso 43F apresentou decréscimo na taxa de crescimento de $0,03 \text{ cm dia}^{-1}$, os acessos AusT e 89F apresentaram taxa de crescimento médio de 8,40 e 4,27 cm, respectivamente, em suspensão hídrica de 21 dias. Assim também foram observadas reduções no número de ramos, número de folhas, comprimento das folhas e diâmetro do caule. Foi observado acúmulo de 463% de prolina livre nas folhas das plantas submetidas à suspensão hídrica de 21 dias ($90,22 \text{ mg kg}^{-1}$) em relação as submetidas a suspensão hídrica de 7 dias ($16,03 \text{ mg kg}^{-1}$). Assim também foram observados acúmulos de carboidratos (CHO) nas folhas dos acessos 43F e 89F de 28 e 51%, respectivamente em suspensão hídrica de 21 dias, contudo o AusT apresentou declínio de 38% em CHO quando submetido a suspensão hídrica de 21 dias. Acúmulos de prolina e carboidratos solúveis totais nos acessos 43F e 89F não foram suficientes para regular o conteúdo de proteína bruta, carbono, relação C:N e clorofilas *a* e *b*. Esses resultados demonstram a grande variabilidade no grau de tolerância à seca entre espécies e, mesmo dentro de uma espécie, entre variedades. Sendo os acessos 43F e 89F mais susceptíveis à suspensão hídrica de 21 dias e o acesso AusT o indicado para cultivo sob suspensão hídrica de 21 dias, apresentando melhor comportamento morfológico e químico.

Palavra chave: estresse hídrico, jureminha, leguminosa nativa, proteína bruta.

Morphological, production, and chemical evaluation of *Desmanthus* spp. submitted to moisture stress

ABSTRACT – Water availability is one of the main constraints to growth and plant productivity. This study aimed to assess morphological, productive and chemical characteristics of two accessions of *Desmanthus pernambucanus* (43F and 89F) and an one *Desmanthus* spp. (AusT) submitted to water deprivation during 7 or 21 days in a greenhouse. Water stress interfered with morphological, productive and chemical characteristics of *Desmanthus* spp. Accession 43F showed a decrease in growth rate of 0.03 cm⁻¹ while AusT and 89F showed average growth rate of 8.40 and 4.27 cm, respectively, after 21 days of water deprivation. Reductions were observed in the number of branches, number of leaves, length of leaves and stem diameter. The accumulation of free proline in the leaves of plants submitted to water stress for 21 days (90.22 mg kg⁻¹) was 463% greater in relation to plants submitted to water deprivation of 7 days (16.03 mg kg⁻¹). We also observed accumulation of carbohydrates (CHO) in the leaves of 43F and 89F 28 and 51%, respectively following 21 days water deprivation, while AusT declined by 38% in CHO when subjected to 21 days. Proline and total soluble carbohydrates accumulation in 43F and 89F hits were not sufficient to regulate crude protein, carbon, C:N ratio and chlorophyll *a* and *b* content. These results demonstrate the great variability in drought tolerance between species and even within a species, between accessions. Accessions 43F and 89F are more susceptible to 21 days deprivation and AusT is indicated for cultivation under water stress because of superior morphological and chemical adaptations.

Key words: water stress, jureminha, native legumes, crude protein.

Introdução

A disponibilidade hídrica é responsável pela distribuição das espécies vegetais nas diferentes zonas climáticas do mundo (Turner e Jones, 1980; Kramer e Boyer, 1995), atribuindo assim, a exploração sustentável de espécies nativas ou adaptadas, às adversidades presentes no meio em que estão inseridas, para manutenção e sucesso da produção (Santos et al., 2010). De fato, a deficiência hídrica ocasionada pela excessiva demanda evaporativa ou pelo limitado suprimento de água resulta em um impacto negativo substancial em todos os aspectos de crescimento e desenvolvimento das plantas.

Dessa maneira, é fundamental o entendimento dos mecanismos de adaptação das plantas à redução da disponibilidade de água no solo, considerando que a quantidade de água no solo disponível das plantas irá variar com a textura e as características físicas do solo (Kiehl, 1979, citado por Santos e Carlesso, 1998). Segundo Taiz & Zeiger (1991), as plantas submetidas a déficit hídrico conflitam entre a conservação da água pela planta e a taxa de assimilação de CO₂ para produção de carboidratos, atribuindo a necessidade da planta em desenvolver mecanismos morfofisiológicos, que as conduzem a economizar água para uso em períodos posteriores (McCree & Fernández, 1989, citado por Santos e Carlesso, 1998).

Estudos das respostas morfofisiológicas das espécies de leguminosas nativas fixadoras de nitrogênio, adaptadas às condições edafoclimáticas da região, podem contribuir para o entendimento de cultivo em condições de regime hídrico. As leguminosas têm potencial para contornar a irregularidade na oferta de forragem, ganho por área, desempenho animal e, conseqüentemente melhorar o uso das áreas, evitando abandono e degradação das pastagens (Barcellos et al., 2008; Apolinário, 2014). Assim, a introdução de leguminosas tem potencial de promover serviços ambientais como a redução na produção de metano em ruminantes (Tedeschi et al., 2011b), disponibilizando nitrogênio

de forma econômica, pela fixação biológica (Diniz, 2016), ao solo, aumentando a disponibilidade de proteína bruta e energia metabolizável para o animal (Foster et al., 2007; Muir et al., 2011). Contudo, o grande desafio ao uso de leguminosas é a baixa persistência de quase a totalidade das cultivares disponibilizadas (Pereira et al., 2012), seja pela baixa resistência ao pastejo, ou devido ao pouco conhecimento sobre a adaptabilidade às condições edafoclimáticas, dentre outros fatores.

Estudos com espécies do gênero *Desmanthus* demonstram seu potencial como alternativa para alimentação de ruminantes por serem adaptadas a regiões secas (Jones e Brandon, 1998; Gardiner e Swan, 2008; Zabala et al., 2008; Diniz, 2016), fonte suplementar de proteína, auxiliando no ganho de peso dos animais (Suksombat e Buakeeree, 2006; Cruz et al., 2007; Rangel e Gardiner, 2009). Além disso, existe um grande polimorfismo intra e interespecífico no gênero *Desmanthus*, o que constitui um fator muito importante na busca de acessos de alta produção de forragem (Lucrow, 1993; Gardiner e Burt, 1995).

Desta forma, as respostas produtivas e morfofisiológicas de espécies de *Desmanthus* spp., cultivadas em condições de baixa disponibilidade hídrica, contribuem para melhoria das condições de cultivo, para posterior disponibilidade como forrageira para os animais, uma vez, que a irreversibilidade do desenvolvimento da planta depende do genótipo (Chaves, 1991), da duração, da severidade e do estágio vegetativo a que a planta se encontrava no momento da deficiência hídrica (Kelling, 1995).

A concentração de tanino, responsável pela adstringência de muitos frutos e produtos vegetais, além de alterações bioquímicas nas células são adotadas na maioria dos vegetais como respostas à deficiência hídrica (Verslues e Sharma, 2010; Muir, 2011; Pereira et al., 2012).

Desse modo, torna-se fundamental para programas de melhoramento genético e, para sustentabilidade de regiões de baixa escassez de água, o conhecimento e identificação de genótipos com respostas adaptativas à deficiência hídrica. Nesse sentido, objetivou-se avaliar respostas morfológicas, produtivas e químicas de três acessos de *Desmanthus* spp. a dois períodos de suspensão hídrica.

Material e Métodos

O experimento foi realizado em casa de vegetação no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife (PE), no período de novembro de 2014 a Junho de 2015. As coordenadas são 8°01'S; 34°57'W, temperatura variando entre 21,0 e 38,2 °C, e umidade atmosférica variando de 42 e 95 % dentro da casa de vegetação. Foram utilizadas plântulas de três acessos de *Desmanthus* spp., obtidas a partir de sementes oriundas do banco de germoplasma (*ex situ*) da UFRPE em Serra Talhada (Tabela 1). Os acessos 43F e 89F foram coletados no município de Bom Jardim - PE, em argissolo vermelho escuro e vertissolo, respectivamente, identificadas como espécie *Desmanthus pernambucanus* (L.) Thellung (classificada pelo Instituto Agronômico de Pernambuco – IPA, Fomento Internacional do Brasil LTDA (FIB) nº02/2012). O acesso AusT foi fornecido pela Embrapa Tabuleiros Costeiros e, foi obtido da Austrália. Contudo, sua identificação consta apenas como *Desmanthus* spp., de acordo com *Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation/Organização de Pesquisa da Comunidade Científica e Industrial (CSIRO)*.

Tabela 1. Identificação e origem dos acessos de *Desmanthus* spp. avaliados.

Identificação	Procedência	Latitude (Sul)	Longitude
43F*	Bom Jardim – Brasil	7°47'	35°32'
89F*	Bom Jardim – Brasil	7°50'	35°41'
AusT**	Ethiopia – CSIRO	17°8'	-61°48'

*Queiroz (2012), **AusPGRIS – Australian Plant Genetic Resource Information Service (http://www2.dpi.qld.gov.au/extra/asp/AusPGRIS/Scripts/Display_Accession.asp?theAccession=AusTRCF70338)

As sementes foram escarificadas por meio de desponte da semente (corte da região oposta ao hilo) (Queiroz, 2012) e mergulhadas em água por 24 horas, posteriormente, fez-se a semeadura de, aproximadamente, cinco sementes por balde contendo 8 kg de solo e 100 g de brita. Os baldes apresentavam capacidade para 10L e dimensões de 0,40 m de altura e 0,20 m de diâmetro e foram perfurados na base, para monitorar a água drenada.

O solo utilizado foi classificado como solo Argissolo Vermelho Distrófico (ZAPE, 2001), não salino e não sódico, o qual foi coletado no Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) em Arcoverde – PE, a uma profundidade de 20 cm. Foi realizada análise de fertilidade do solo (Embrapa, 1997) no IPA-Recife (Tabela 2), e houve a necessidade de aplicação de 0,456 g de KCl e 0,198 g P₂O₅ por vaso, utilizando como fonte de P₂O₅ o superfosfato simples.

Tabela 2. Fertilidade de amostras do solo utilizado, antes da aplicação dos tratamentos.

pH	P	Ca	Mg	Na	K	Al	H	S	CTC	V	m
H ₂ O	mg/dm ³				cmolc/dm ³					%	
5,9	16	2,60	0,90	0,06	0,35	0	1,89	3,90	5,80	67	0

*Análise realizada no IPA. Extrator de P, Mehlich 1. Capacidade de troca de cátions (CTC), saturação por Alumínio (m%) e saturação por bases (V%)

Após a semeadura, as plantas receberam água em dias alternados por 60 dias, quando foi realizado o desbaste, deixando-se apenas duas plantas por vaso, e corte de uniformização a uma altura de 15 cm do solo. As plantas de cada acesso foram submetidas aos tratamentos de suspensão hídrica de 7 e 21 dias, iniciado no mesmo dia de corte de uniformização e finalizado em 252 dias de experimentação. Desse modo, existiam vasos que receberam água a cada 7 dias e vasos que receberam água a cada 21 dias, durante 252 dias de experimentação. Neles, havia uma abertura, na lateral a 2 cm da base, do drenado onde foram instaladas mangueiras e receptores (potes plásticos) para captura da água drenada, evitando perdas de nutrientes pela lixiviação. A água depositada nos potes receptores foi recolocada no vaso, no final da tarde, no mesmo dia da aplicação dos tratamentos de suspensão hídrica.

Avaliações morfológicas foram realizadas a cada 21 dias, sendo mensuradas: a altura da planta, diâmetro da base do caule, número de folhas por planta, número de ramos do caule principal e comprimento e largura de folhas. A altura da planta, medida do nível

do solo ao ápice da planta utilizando-se uma trena graduada (cm); diâmetro na base do caule, medido com o auxílio de um paquímetro (cm); número de folhas da planta e número de ramos do caule principal, realizados por contagem; comprimento e largura de folhas, com auxílio de um paquímetro (cm). As folhas mensuradas foram aquelas que melhor representassem as folhas dos vasos.

Durante o período experimental houve a necessidade de controle de lagartas e cochonilhas. Para tal finalidade, utilizou-se inseticida natural Azamax, grupo dos tetranortriterpenóides, que atua na inibição da alimentação e crescimento de insetos.

Aos 147 dias, após o corte de uniformização, foram coletadas folhas das plantas para quantificação de prolina livre, tomadas entre 9h e 10h. A extração e quantificação de prolina livre nas folhas, foi realizada em folhas frescas maduras, completamente expandidas, seguindo a metodologia proposta descrita por Bates et al. (1973) e modificada por Bezerra Neto e Barreto (2011).

O teor de clorofila foi avaliado 168 dias, após os cortes de uniformização, utilizando o medidor portátil de clorofila SPAD-502, em cinco folhas por vaso, e por meio da metodologia de espectrofotométrico descrita em Bezerra Neto e Barreto (2011). As leituras de absorvância foram realizadas, utilizando o espectrofotômetro modelo SP-22 da Biospectro®. As folhas, peso médio de 0,25 g, foram coletadas no período entre 7-9 h da manhã (com temperatura de 31,6-38,1°C e umidade relativa de 70-90%). A densidade ótica dos filtrados foi lida em espectrofotômetro nas ondas de 645 e 663 nm, utilizando cubetas de quartzo. Foram determinadas as concentrações de clorofilas *a*, *b* e *totais* nas soluções de leitura, por meio de fórmulas propostas por Arnon (1949): Clorofila *a* = $12,7 * A_{663nm} - 2,69 * A_{645nm}$; Clorofila *b* = $22,9 * A_{645nm} - 4,68 * A_{663nm}$; e Clorofilas *totais* = a soma das clorofilas *a* e *b*. A partir das leituras, em unidades de µg/mililitro de extrato,

considerou-se o volume do extrator, e a massa foliar pesada inicialmente, sendo os teores recalculados para matéria seca e expressos como $\mu\text{g g}^{-1}$.

No final do período experimental, 252 dias após o corte de uniformização, foram feitas análises destrutivas do material. Foram coletadas e pesadas separadamente folhas, caules + ramos, adotando-se como caule, e raízes das plantas, para a determinação da produção de material verde. O material foi acondicionado em sacos de papel e secos em estufa forçada de ar a 55°C até o peso constante, visando a obtenção da matéria seca. Em seguida foram moídas em moinho tipo bola e, posteriormente, em moinho Willey de malha 1 mm, e armazenadas em sacos plásticos. A raiz foi lavada com água corrente para retirada do solo, e depositadas por 5 minutos em papel toalha para retirada do excesso de umidade.

Do material moído foram determinados teores de matéria seca (MS), material mineral (MM), carboidratos solúveis totais (CHO), nitrogênio (N) e carbono (C).

A determinação de MS do material fracionado em folhas, caule/ramos e raízes, e teor de MM seguiu a metodologia descrita por Detmann et al. (2012). A determinação de CHO foi realizada conforme a metodologia descrita por Yemm & Wills (1954) e modificada por Bezerra Neto e Barreto (2011). Para determinação de CHO foram utilizadas em média 0,26 g da massa seca de folhas, caules e raízes de cada amostra. Realizadas três réplicas de cada amostra.

Para determinação de nitrogênio e carbono, as amostras foram analisadas para N por combustão, usando um analisador de C:N (Elementar Americas, Inc, Mt. Laurel, NJ, EUA). Com os dados de nitrogênio, foi possível calcular a proteína bruta (PB) através da multiplicação por 6,25 (Van Soest, 1994).

Análises de extração e quantificação prolina livre e CHO foram realizadas no Laboratório de Química Vegetal, do Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco. O CRA nas folhas foi realizado no Laboratório de Forragicultura,

do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Análise de carbono e nitrogênio foram realizadas em Texas A&M AgriLife Research Bromotological Laboratory, Stephenville Texas USA.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, com arranjo fatorial 3 x 2 (acesso e suspensão hídrica), com quatro repetições, sendo a unidade experimental representada por um vaso contendo duas plantas. Para avaliar o efeito dos períodos de avaliação, os dados foram submetidos à análise de variância com teste F ($p < 0,05$) e aplicada à análise de regressão polinomial. Para as demais variáveis realizou-se análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo Teste de Tukey ($P \leq 0,05$) através do software SAS 9.0. O valor $P \leq 0,05$ foi considerado significativo. Foram testados os efeitos de acesso e suspensão hídrica para as variáveis prolina livre nas folhas frescas; assim como, para as variáveis CHO; MS; MM; PB, C e N, incluindo o efeito de fração da planta (folha, caule e raiz). Para os dados de índice de SPAD e Clorofilas *a*, *b* e *total*, os dados foram submetidos à análise de correlação.

Resultados e Discussão

Características morfológicas

Houve efeito do acesso e suspensão hídrica nas características quantitativas avaliadas. A taxa de crescimento das plantas de *Desmanthus* spp. submetidas à suspensão hídrica de 7 e 21 dias (Figura 1), apresentaram decréscimo linear.

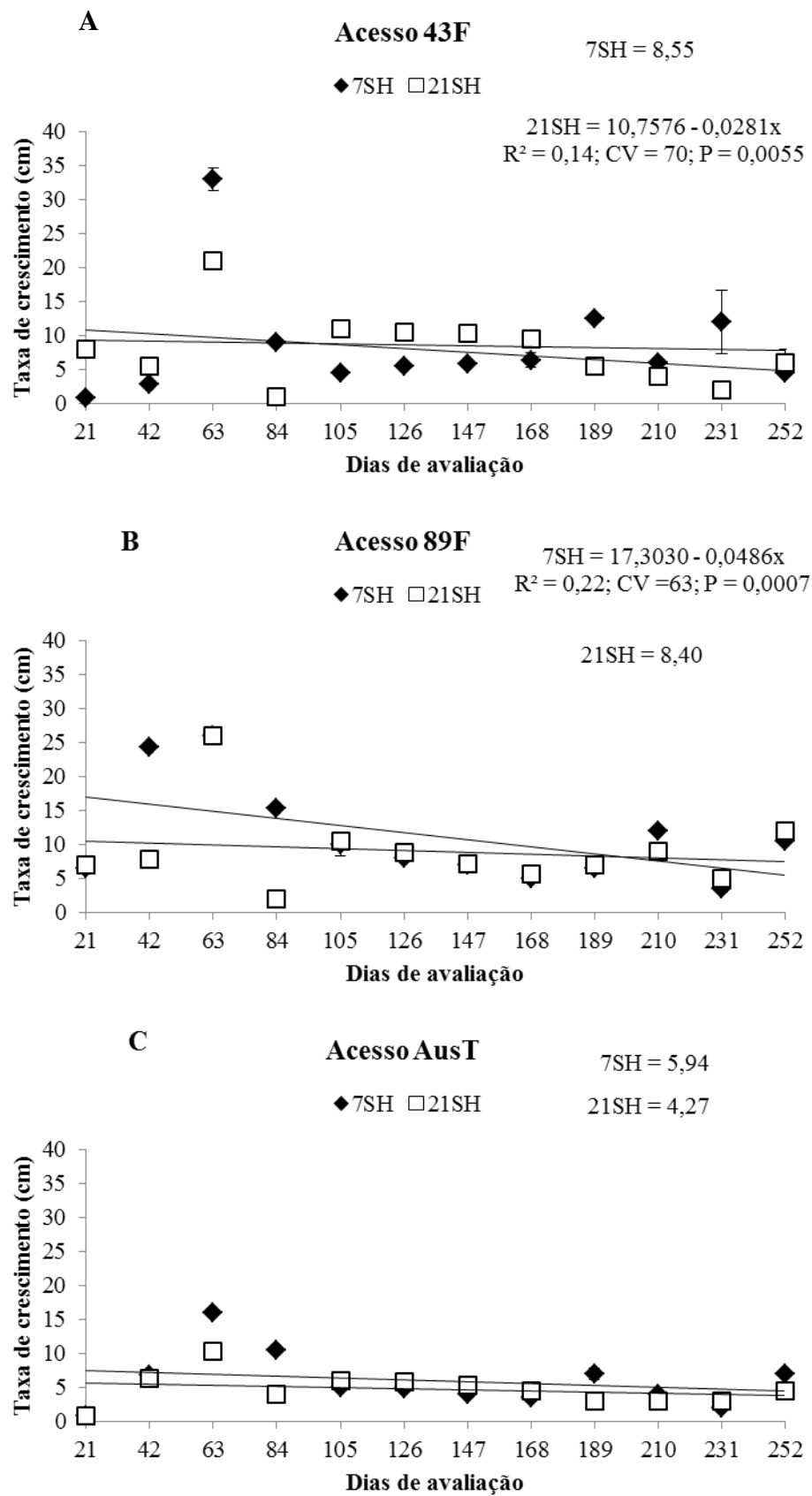


Figura 1. Taxa de crescimento em acessos de *Desmanthus* spp. submetidos a suspensão hídrica de 7 dias (◆) e 21 dias (□), durante período experimental de 252 dias.

Na suspensão hídrica de 7 dias, as plantas do acesso 89F apresentaram maior redução na taxa de crescimento durante o período de avaliação (Figura 1A), com decréscimo de 0,05 cm (coeficiente angular) na taxa de crescimento diário. No entanto, na suspensão hídrica de 21 dias (Figura 1B), o acesso 43F apresentou a maior redução média significativa na taxa de crescimento diário, com decréscimo de 0,03 cm a cada dia. Já os acessos AusT e 89F apresentaram taxa de crescimento médio de 8,40 e 4,27 cm, respectivamente, em suspensão hídrica de 21 dias (Figura 1B e 1C). Segundo Ludlow (1976), há uma grande variabilidade no grau de tolerância à seca entre espécies e, mesmo dentro de uma espécie, e entre variedades. Dessa forma, os acessos 43F e 89F, ambos pertencentes à *D. pernambucanus*, coletadas no Semiárido de Pernambuco, adaptados às condições de baixa precipitação, apresentaram resultados distintos quanto à taxa de crescimento.

O decréscimo da taxa de crescimento das plantas pode estar relacionado ao aumento do nível hormonal do ácido abscísico (ABA), em resposta à deficiência hídrica nas plantas, retardando o crescimento vegetal (Sharp, 2002). De acordo com Taiz e Zeiger (2004), esse hormônio é considerado um sinalizador da raiz, promovendo a redução da taxa de transpiração da planta pelo fechamento estomático. Com a diminuição da disponibilidade de água nas plantas, provocadas pela duração da escassez de água no solo, provavelmente ocorreu uma alcalinização da seiva no xilema e maior transporte de ABA para as folhas, atuando nas células-guarda do estômato, provocando modificação no transporte de cátions e ânions, provocando efluxo de K⁺ e ânions, e inibição da bomba de prótons H⁺ através da membrana plasmática, que, segundo Taiz e Zeiger (2009), causa a saída de água pelo menor potencial osmótico e influencia o fechamento dos estômatos para evitar a perda excessiva de água.

Esses resultados, de redução no desenvolvimento das plantas a períodos de estiagem, dificultam a persistência dessas plantas. Podendo provocar uma forte supressão no crescimento inicial, principalmente em consórcio com gramíneas, visto que, uma das principais vantagens das gramíneas de cobertura é a rapidez de crescimento inicial, mesmo em condições de deficiência hídrica.

Para o diâmetro basal do caule (Figura 2), observou-se comportamento quadrático para as plantas submetidas a suspensão hídrica de 7 dias (crescimento de 0,000003 cm) e, comportamento linear para plantas submetidas à suspensão hídrica de 21 dias, apresentando crescimento diário de 0,001 cm. A suspensão hídrica de 21 dias influenciou diretamente a dinâmica de crescimento quanto ao diâmetro basal do caule das plantas.

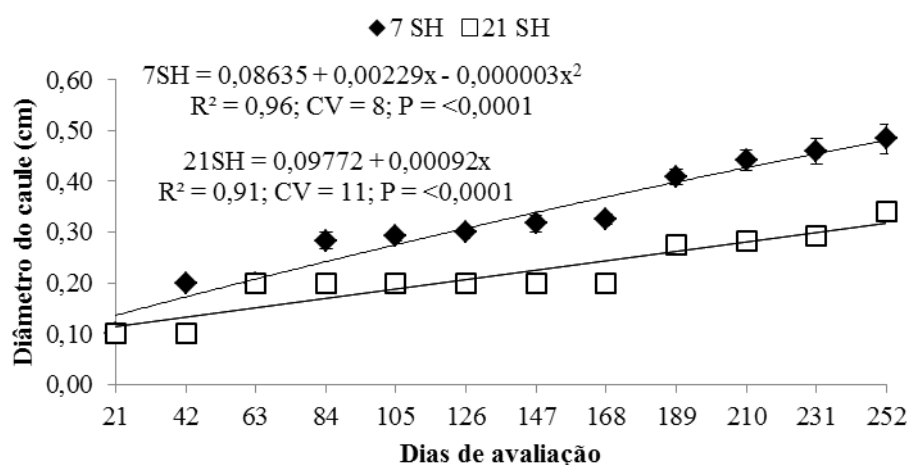


Figura 2. Diâmetro do caule das plantas de *Desmanthus* spp. submetidas a suspensão hídrica de 7 e 21 dias, durante o período experimental de 252 dias.

De acordo com Araújo et al. (2000), o diâmetro do caule expressa mais confiantemente as boas condições do sistema radicular que a altura da planta, e, assim, a produção das plantas, podendo interferir, segundo Paludo et al. (2012), na capacidade de adaptação a intempéries climáticas e capacidade de rebrota, em decorrência de suas reservas orgânicas.

A associação do diâmetro do caule á altura das plantas representa um dos fatores de grande importância na avaliação de rebrota das plantas, onde o número de pontos de crescimento distribuídos ao longo do caule, e a quantidade de reservas contribuem para o processo de rebrota. Dessa forma, a persistência/sobrevivência as plantas aumenta quanto maior for o desenvolvimento em diâmetro, dando-se também a possibilidade da realização de produção por estaquia. Contudo, a suspensão hídrica causou uma lenta taxa de crescimento e espessura de diâmetro do caule de acessos de *Desmanthus* spp. A realização de cortes em início de crescimento de plantas submetidas a períodos de estiagem de 21 dias pode comprometer a rebrota.

O número de ramos do caule principal foi afetado pela suspensão hídrica e não observou-se efeito de acessos (Figura 3). A suspensão hídrica causou efeito quadrático no acesso 43F no número de ramos (Figura 3A). Já o acesso 89F e AusT apresentaram número médio aproximado de 3,65 e 3,38 ramos, respectivamente, em suspensão hídrica de 21 dias (Figuras 3B e 3C).

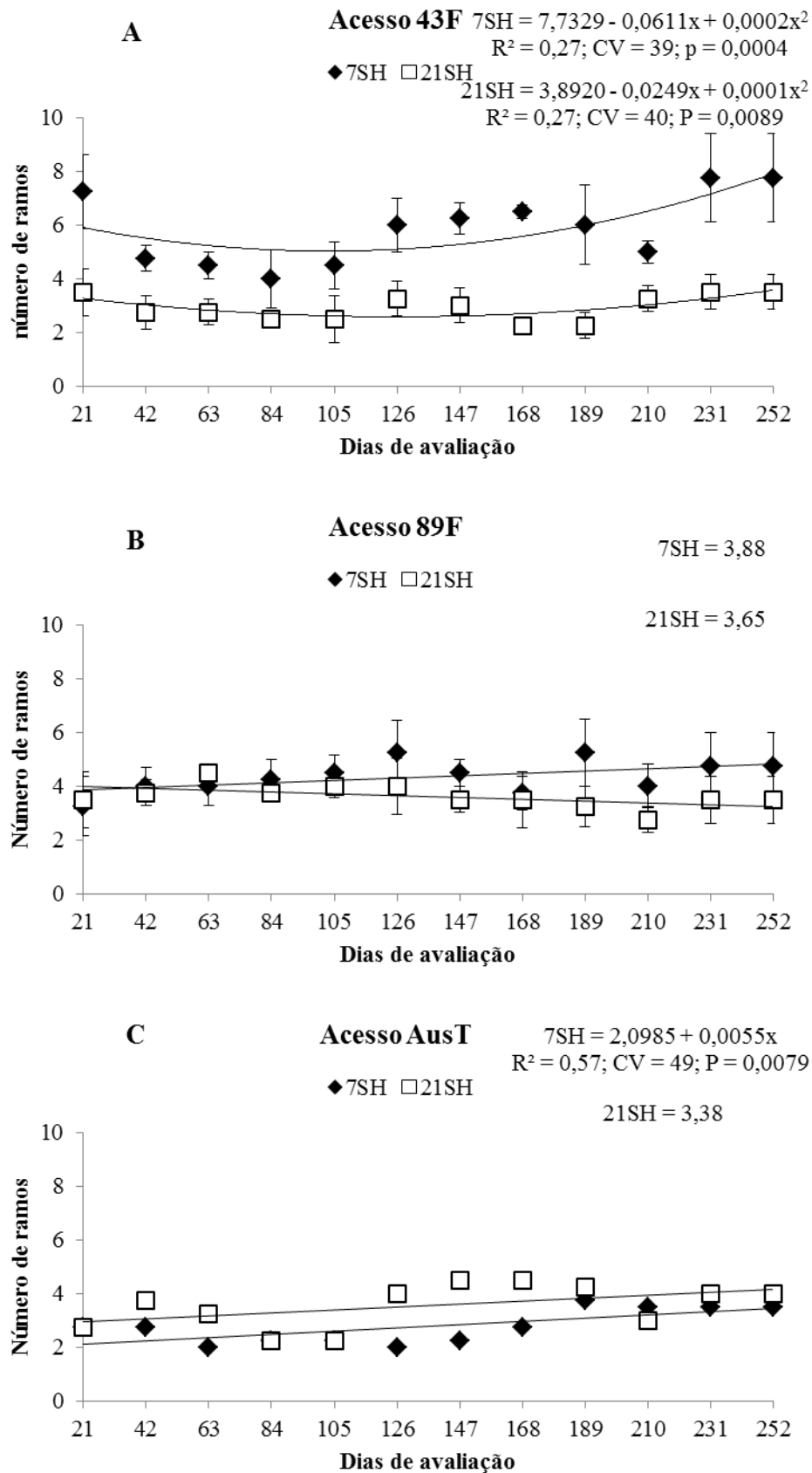


Figura 3. Número de ramos em acessos de *Desmanthus* spp. submetidos a suspensão hídrica de 7 dias (◆) e 21 dias (□), durante período experimental de 252 dias.

Os acessos 89F e AusT apresentaram menor diferença entre os números de ramos nas suspensões hídras aplicadas, demonstrando habilidade no crescimento e manutenção da turgescência das células. Essa manutenção do turgor nas células permitiu a continuidade dos processos de crescimento, expansão e divisão celular, retardando a desidratação dos tecidos, o que permite uma utilização de reservas em períodos posteriores ao ciclo. Possivelmente, o acesso 89F apresentou maior dificuldade na manutenção da turgescência das células, quando submetidos à suspensão hídrica de 21 dias.

O número de folhas verdes foi afetado pela suspensão hídrica e não apresentou efeito sobre os acessos (Figura 4). Observa-se que o acesso 43F (Figura 4A) apresentou comportamento quadrático quando submetidos ao tratamento de suspensão hídrica de 21 dias. Já os acessos 89F e AusT apresentaram número médio de aproximadamente 21 e 19 folhas verdes, respectivamente (Figuras 4B e 4C).

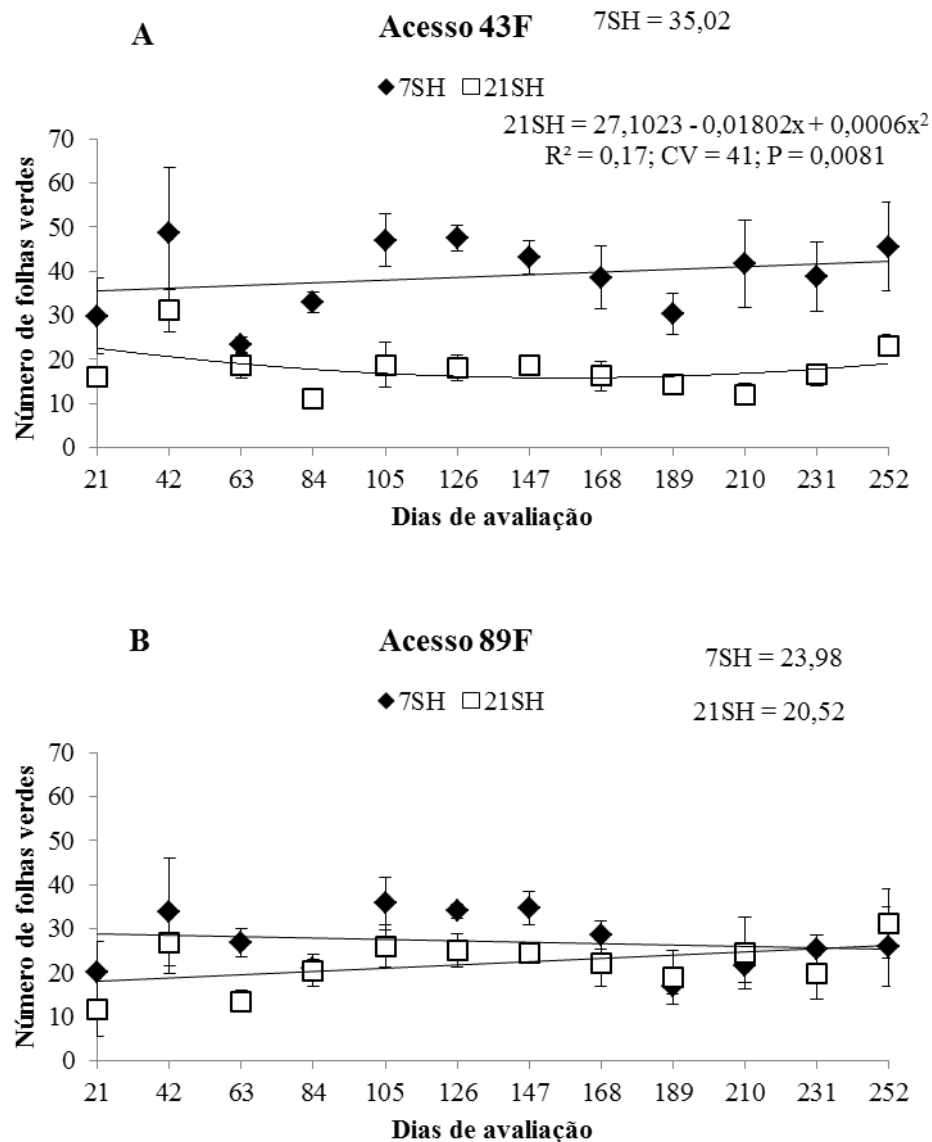


Figura 4. Número de folhas verdes em acessos de *Desmanthus* spp. submetidos a suspensão hídrica de 7 dias (◆) e 21 dias (□), durante período experimental de 252 dias.

A diferença de novas folhas observadas no acesso 43F entre as suspensões hídricas demonstra que o surgimento de novas folhas foi influenciado pela menor divisão celular, provocada pela menor quantidade de água disponível na planta. Como estratégia, a planta diminuiu a superfície transpirante e o gasto metabólico para manutenção dos tecidos. Assim, a manutenção de folhas verdes dos acessos 89F e AusT na suspensão hídrica de 21 dias pode ser um indicativo de tolerância à seca. Provavelmente, como resposta à suspensão hídrica, esses acessos (89F e AusT) produziram novas folhas com maior

densidade estomática e menor tamanho (Figuras 5 e 6). De acordo com Fahn e Cutler (1992), menor área foliar, maior densidade estomática, maior espessura total e de parênquima paliçádico, presença de camadas subepidérmicas e de tecido esclerenquimático são estratégias para aumentar a resistência cuticular contra a perda de água, evitando, assim, a perda de folhas e mantendo um crescimento, mesmo que de forma lenta, das células dos tecidos da planta.

Uma vez iniciado o primórdio foliar, o tamanho final atingido é determinado pelo índice de duração da divisão e expansão celular. Com isso, observa-se que o comprimento das folhas dos acessos 43F e 89F foi afetado pela suspensão hídrica, apresentando decréscimo linear (Figuras 5A e 5B). Para o comprimento das folhas do acesso AusT observou-se comportamento linear positivo (Figura 5C).

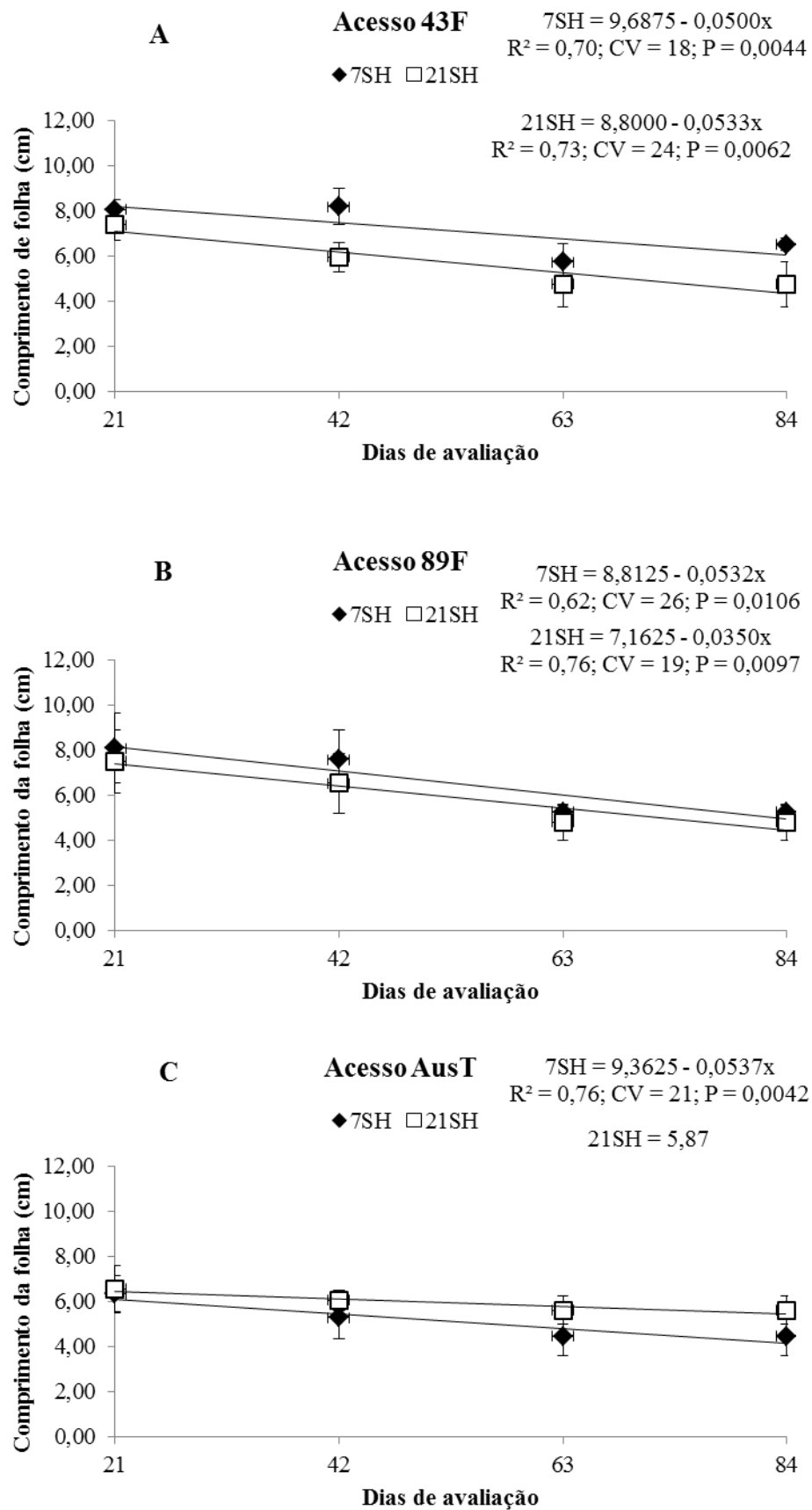


Figura 5. Comprimento de folhas em acessos de *Desmanthus* spp. submetidos a suspensão hídrica de 7 dias (◆) e 21 dias (□), durante período experimental de 84 dias.

A largura das folhas foi afetada pela suspensão hídrica e não se observou efeito para o fator acesso (Figura 6). Os acessos apresentaram média de 5,31; 4,94 e 5,03 cm em larguras das folhas dos acessos 43F, 89F e AusT, respectivamente (Figuras 6A, 6B e 6C). Observa-se para largura das folhas dos acessos 89F e AusT comportamento linear, sendo a largura das folhas maior na suspensão hídrica de 21 dias.

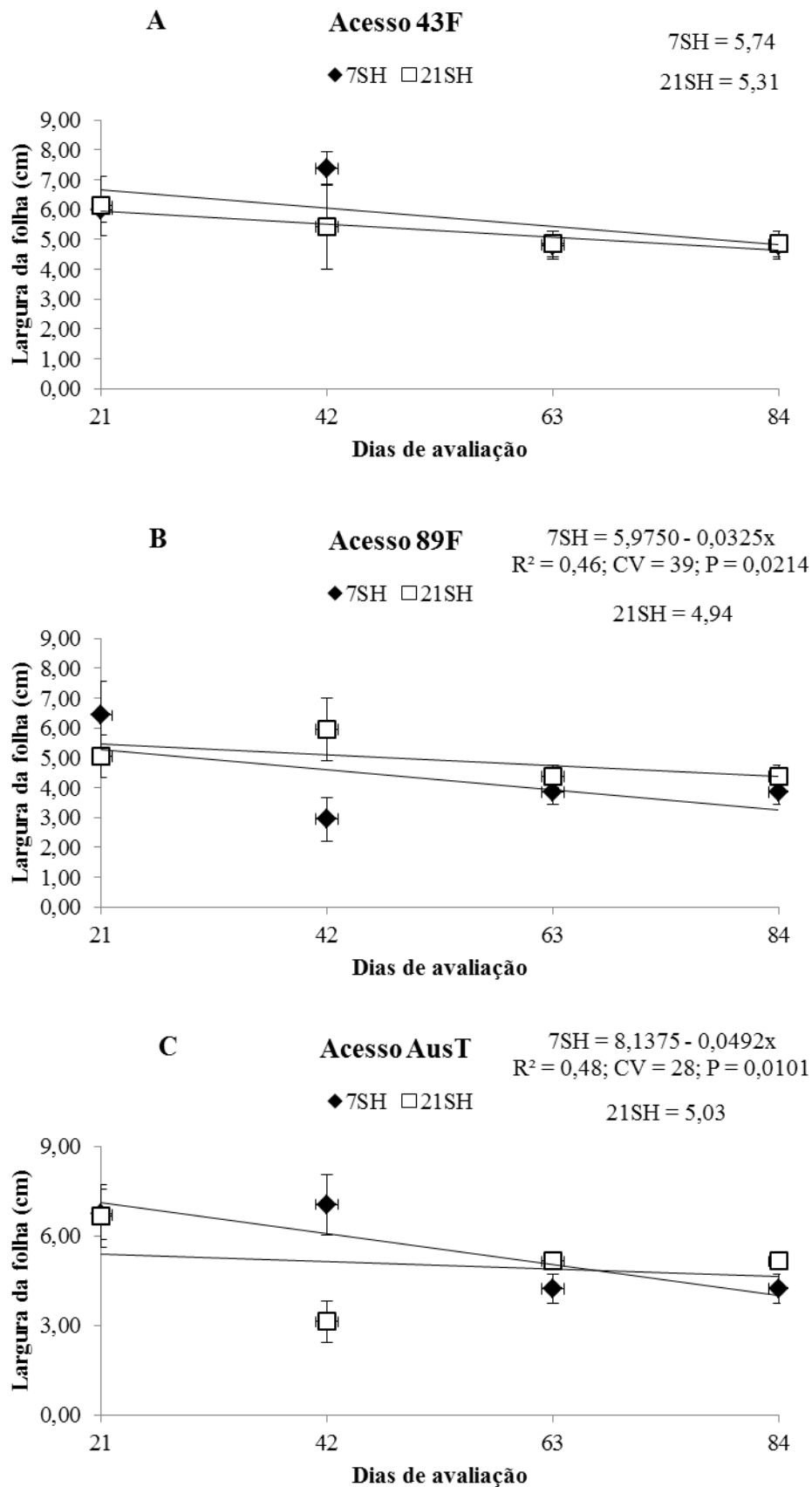


Figura 6. Largura de folhas em acessos de *Desmanthus* spp. submetidos a suspensão hídrica de 7 dias (◆) e 21 dias (□), durante período experimental de 84 dias.

Segundo Silva et al. (2008), o uso das medidas lineares das folhas, tanto largura quanto comprimento, pode permitir o acompanhamento do crescimento e da expansão foliar da planta, desde o início até o fim do ciclo. De acordo com Nascimento et al. (2002), o comprimento e largura das folhas podem ser considerados medidas não destrutivas que estimam a área folia. Essas medidas facilitam a quantificação da área foliar no campo, dispensando medidores de área foliar caros ou a realização de demoradas reconstruções geométricas, sem necessidade de coletar a folha. A limitação na área foliar pode ser considerada como uma primeira reação das plantas em relação ao déficit hídrico imposto, afetando severamente a produção de assimilados pela redução na área foliar fotossinteticamente ativa.

Desta forma, os resultados de comprimento e largura das folhas do acesso AusT demonstram que provavelmente suas folhas resistiram mais à diminuição da área foliar, o que certamente não ocorreu nos acessos 43F e 89F como estratégia de diminuir as perdas de água nas folhas. Por outro lado, Nascimento et al. (2002) relatam que a área foliar está diretamente ligada à produtividade das plantas. Sendo assim, o acesso AusT deveria apresentar maior produtividade que os demais acessos. Entretanto, é importante ressaltar que apesar do acesso 43F ter sido afetado significativamente pela suspensão hídrica, apresentou média maior de número de ramos (Figura 3) e folhas verdes (Figura 4) na suspensão hídrica de 21 dias em relação aos acessos 89F e AusT, influenciando na produtividade das plantas. O que ocorre é que o acesso AusT apresentou maiores resultados em relação às suspensões hídricas estudadas. Então esse acesso pode ter apresentado menor produção, porém, de melhor qualidade, como será relatado nas características qualitativas.

Assim, a redução no tamanho das folhas do acesso (Figuras 5 e 6) associada ao menor número de folhas (Figura 4) pode reduzir o índice de área foliar, o que pode alterar

a interceptação da radiação solar, através de modificações na exposição e duração da área foliar. Neste sentido, alterações promovidas pela deficiência hídrica sobre o comprimento e a largura das folhas influenciam na obtenção da área foliar da planta e, conseqüentemente, no índice de área foliar.

Características Produtivas

Verificou-se efeito significativo da suspensão hídrica e acessos para características produtivas. A produção de massa de folha e caule dos acessos de *Desmanthus* spp. reduziu em decorrência da suspensão hídrica (Tabela 3). Observou-se redução de produção na fração folha e caule de 64% e 51%, respectivamente. A baixa disponibilidade de água nas plantas reduziu a produção de massa, provavelmente pelo baixo potencial hídrico foliar, transpiração e taxa fotossintética, além de alterações a partição de assimilados entre as partes das plantas.

Tabela 3. Produção de folha e caule dos acessos de *Desmanthus* spp. submetidas a suspensão hídrica de 7 e 21 dias.

Acessos	Suspensão hídrica		Nível de P*
	7 dias	21 dias	
	Folha (g planta ⁻¹)		
43F	3,29 B	1,86 A	<0,0001
89F	3,89 A	0,82 C	<0,0001
AusT	3,38 B	1,16 B	<0,0001
Desvio padrão	0,03		
Coeficiente de variação (%)	2,43		
	Caule (g planta ⁻¹)		
43F	4,65 A	1,97 A	<0,0001
89F	3,48 B	1,20 B	0,0002
AusT	1,25 C	1,42 B	0,9439
Desvio padrão	0,14		
Coeficiente de variação (%)	12,34		

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si (P<0,05) pelo teste de Tukey.

*Médias significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Os resultados de produção estão de acordo com resultados encontrados por Freire et al. (2012), que observaram redução na quantidade de massa da parte aérea das plantas de *Gliricídia*, cultivadas em casa de vegetação e submetidas ao estresse hídrico através da

suspensão da irrigação por 15 dias. Em plantas de sete genótipos da coleção nuclear de Trevo branco, cultivados em casa de vegetação submetidas à disponibilidade hídrica (90 e 40% da umidade de capacidade de campo do solo), Bortolini et al. (2011) observaram limitações no acúmulo de produção de massa dos acessos submetidos à baixa disponibilidade de água, em decorrência da aérea foliar no primeiro corte, e ao comprimento dos estolões no segundo corte. O acesso 43F apresentou maior produção de folha ($1,86 \text{ g planta}^{-1}$) e caule ($1,97 \text{ g planta}^{-1}$), em relação aos acessos 89F e AusT com $0,82$ e $1,60 \text{ g planta}^{-1}$, respectivamente, de folhas, e de $1,20$ e $1,42 \text{ g planta}^{-1}$ de caule na suspensão hídrica de 21 dias.

Para relação folha/caule observou-se interação significativa entre acessos e períodos de suspensão hídrica (Tabela 4). Na suspensão hídrica de 21 dias, os acessos 43F e AusT apresentaram maior relação folha/caule de $1,04$ e $0,82$, respectivamente. O acesso AusT apresentou redução significativa de 70% na relação folha/caule, quando submetido à suspensão hídrica de 21 dias.

Tabela 4. Relação folha/ramo dos acessos de *Desmanthus* spp. submetidas a suspensão hídrica de 7 e 21 dias.

Acessos	Suspensão hídrica		F
	7 dias	21 dias	
43F	0,71 C	1,04 A	0,2951
89F	1,12 B	0,68 B	0,1258
AusT	2,74 A	0,82 A	<0,0001
Desvio padrão	0,10		
Coefficiente de variação (%)	16,64		

Médias seguidas de letras maiúsculas, distintas na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F diferem entre suspensão hídrica.

Apesar da redução apresentada pelo acesso AusT na suspensão hídrica de 21 dias, este acesso apresentou 21% a mais na relação folha/caule que o acesso 89F. Esses resultados dos acessos 43F e AusT provavelmente aumentaram o valor proteico das plantas, melhorando a digestibilidade.

Características Químicas

Observa-se efeito significativo na interação acessos e suspensão hídrica na matéria seca e material mineral das plantas (Tabela 5). A suspensão hídrica promoveu aumento da MS da fração folha nos acessos de *Desmanthus* spp., tendo o acesso AusT apresentado maior MS (342,38 g kg⁻¹). O acesso 43F apresentou menor MS (225,95 g kg⁻¹).

Tabela 5. Matéria seca (MS) e material mineral (MM) da fração folha e caule das plantas de *Desmanthus* spp. submetidas a suspensão hídrica.

Acessos	Suspensão hídrica									
	7 dias			21 dias			Nível de P			
	MS				MM					
	Folha (g kg ⁻¹)									
43F	182,17	C	225,96	C	0,0014	89,98	A	92,30	B	0,0006
89F	249,68	A	284,29	B	0,0048	79,64	C	78,46	C	0,0198
AusT	211,70	B	342,38	A	<0,0001	86,66	B	99,94	A	<0,0001
Desvio padrão	3,75				0,18					
CV (%)	3,01				0,40					
	MS				MM					
	Caule (g kg ⁻¹)									
43F	500,36	B	476,64	B	0,0202	32,06	A	27,89	A	0,1365
89F	483,46	C	489,15	A	0,8366	34,53	A	26,37	A	0,0074
AusT	513,41	A	443,32	C	<0,0001	27,39	B	29,40	A	0,6918
Desvio padrão	3,44				1,04					
CV (%)	1,42				7,05					

Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F diferem entre suspensão hídrica. CV = Coeficiente de variação.

A quantidade de MM na fração folha apresentou aumento de 2,60 e 15,32% nos acessos 43F e AusT, respectivamente, quando submetidos à suspensão hídrica de 21 dias. O acesso AusT apresentou 99,94 g kg⁻¹ de MM, sendo aproximadamente 1,08 e 1,27 vezes maior que os acessos 43F (92,30 g kg⁻¹) e 89F (78,46 g kg⁻¹) na suspensão hídrica de 21 dias. Observa-se que apesar da maior absorção de nutrientes do acesso AusT (99,94 g kg⁻¹) e maior captação de carbono (Tabela 6), apresentou baixa produção de massa de 1,16 g planta⁻¹ (Tabela 3). Entretanto, o acesso 43F que apresentou menor MM (92,30 g kg⁻¹) em relação ao acesso AusT (99,94 g kg⁻¹) na suspensão hídrica de 21 dias, com isso menor absorção de nutrientes e menor captação de CO₂ (Tabela 6), revelou maior produção de massa de 1,86 g planta⁻¹ (Tabela 3), o que pode estar associado à quantidade de prolina

nessas plantas. A prolina pode ter se apresentado em maior quantidade no acesso 43F, levando a menor MS e maior produção desse acesso.

O acesso 89F apresenta diminuição de 1,5% em MM quando submetido à suspensão hídrica de 21 dias na fração folha, assim como diminuição de 0,24% na fração caule, resultando numa baixa produção de massa de folha ($0,82 \text{ g planta}^{-1}$) e caule ($1,20 \text{ g planta}^{-1}$) (Tabela 3).

A variáveis proteína bruta (PB), nitrogênio (N), carbono (C) e relação carbono:nitrogênio (C:N) foram influenciadas pela suspensão hídrica e acessos de *Desmanthus* spp. (Tabela 6). O acesso 43F apresentou menor PB ($193,42 \text{ g kg}^{-1}$) do que os acessos 89F ($211,79 \text{ g kg}^{-1}$) e AusT ($229,03 \text{ g kg}^{-1}$) na suspensão hídrica de 21 dias na fração folha. Já na fração caule, foi observado aumento de PB na suspensão hídrica de 21 dias para os acessos 43F ($77,46 \text{ g kg}^{-1}$), 89F ($80,68 \text{ g kg}^{-1}$) e AusT ($86,54 \text{ g kg}^{-1}$).

Tabela 6. Proteína bruta (PB), nitrogênio (N), carbono (C) e relação carbono:nitrogênio (C:N) de frações da planta de *Desmanthus* spp. conforme os períodos de suspensão hídrica.

Acessos	Suspensão hídrica									
	7 dias			21 dias			Nível de P			
Folha (g kg ⁻¹)										
Proteína					Nitrogênio					
43F	219,68	A	193,42	C	0,0029	35,15	A	30,95	C	0,0029
89F	225,00	A	211,79	B	0,0748	36,00	A	33,89	B	0,0748
AusT	222,56	A	229,03	A	0,5415	35,61	A	36,65	A	0,5415
Desvio padrão	2,59				0,41					
CV (%)	2,39				2,39					
Carbono					Relação C:N					
43F	373,71	C	378,62	C	0,0001	10,66	A	12,23	A	0,0007
89F	385,47	B	379,93	B	<0,0001	10,71	A	11,21	B	0,1513
AusT	388,19	A	390,52	A	0,0086	10,90	A	10,66	C	0,7063
Desvio padrão	0,29				0,13					
CV (%)	0,15				2,27					
Caulo (g kg ⁻¹)										
Proteína					Nitrogênio					
43F	70,85	A	77,46	B	0,0328	11,34	A	12,39	B	0,0328
89F	54,15	B	80,68	B	<0,0001	8,66	B	12,91	B	<0,0001
AusT	67,49	A	86,54	A	0,0001	10,80	A	13,85	A	0,0001
Desvio padrão	1,18				0,19					
CV (%)	3,21				3,21					
Carbono					Relação C:N					
43F	406,49	A	403,98	A	0,3633	35,87	B	32,60	A	0,2668
89F	402,62	A	398,91	A	0,3633	46,81	A	30,90	A	0,0002
AusT	401,18	A	398,42	A	0,3633	37,15	B	28,77	B	0,0057
Desvio padrão	0,42				0,98					
CV (%)	0,21				5,52					

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F diferem entre suspensão hídrica. CV = Coeficiente de variação.

Os valores de PB nas folhas das espécies de *Desmanthus* spp. estão de acordo com dados de Diniz (2016), que observou valores de 227,98 g kg⁻¹ nas folhas e de 118,75 g kg⁻¹ nos caules de *Desmanthus* spp colhidos aos 75 dias. *Desmanthus virgatus* (L.) Willd. no brejo paraibano, apresentou valores de 170 g kg⁻¹ para 395 dias de crescimento e de 202 g kg⁻¹ para 72 dias de rebrota (Figueiredo et al., 2000a).

Diniz (2016) menciona a importância do fracionamento da PB, pois teores altos de proteína não indicam que esta seja prontamente disponível aos animais, podendo estar associada à fibra em detergente ácido ou até mesmo ao tanino condensado (TC). O autor relata a alta associação de proteína à fibra em detergente ácido, onde observou na fração B3, representada pela proteína associada à fibra em detergente neutro e que compõe a

parede celular, sendo potencialmente degradável lentamente, a variação de 121 a 169 g kg⁻¹ nas folhas e de 114 a 142 g kg⁻¹ nos caules; e a fração C, que corresponde à proteína associada à lignina, complexos tanino proteína e produtos oriundos da reação de Maillard, altamente resistentes às enzimas microbianas e indigestíveis ao longo do trato gastrintestinal (Licitra et al., 1996), a variação de 459 a 475 g kg⁻¹ nas folhas e de 422 a 464 g kg⁻¹ nos caules.

De acordo com os resultados observados de carbono nas plantas, o acesso AusT foi o que apresentou maior quantidade de carbono na folha (390,52 g kg⁻¹) quando submetido à suspensão hídrica de 21 dias. Provavelmente, esse acesso sofreu menores perdas de carbono no processo de respiração em relação aos acessos 43F (378,62 g kg⁻¹) e 89F (379,93 g kg⁻¹) no tratamento de suspensão hídrica de 21 dias, o que disponibilizará maior quantidade de carbono para os animais, assim como para os decompositores na degradação das moléculas orgânicas.

Os resultados de C (carbono) encontrados no presente trabalho (Tabela 11) foram menores aos observados por Cooper et al. (2014), em *Desmodium paniculatum* sem desfolhação no período vegetativo (464,10 g kg⁻¹), início reprodutivo (florescimento) (458,00 g kg⁻¹) e estágios de sementes (447,60 g kg⁻¹), e desfolhados no período vegetativo (464,42 g kg⁻¹), florescimento (462,97 g kg⁻¹) e frutificação (447,17 g kg⁻¹).

Os valores de carbono e nitrogênio verificados no acesso AusT contribuíram para uma menor relação C/N na fração folha (11) e caule (29) das plantas submetidas a suspensão hídrica de 21 dias, proporcionando uma maior eficiência na liberação de nitrogênio na decomposição desses materiais. Foram observados aumentos na relação C/N na fração folha dos acessos 43F (12) e 89F (11), e redução na fração caule dos acessos 43F (33) e 89F (31) quando submetidas a suspensões hídricas de 21 dias. Assim, os acessos da espécie *D. pernambucanus* promoverão uma liberação de nutrientes para produção de

energia mais lenta para os microrganismos no momento da mineralização da matéria orgânica, em relação ao acesso AusT em condições de suspensão hídrica de 21 dias. Além disso, o acesso AusT poderá liberar nitrogênio excedente para o solo, colocando-o a disposição das demais plantas e contribuindo no seu desenvolvimento e produção.

De fato, o acesso AusT apresentou os maiores valores de carbono e nitrogênio na parte aérea de suas plantas na suspensão hídrica de 21 dias, podendo indicar uma maior eficiência no processo fotossintético, o que pode ser confirmado com os resultados encontrados nas avaliações do conteúdo de clorofila *a* (Tabela 7). As clorofilas são responsáveis pela captação de energia luminosa - papel importante na fotossíntese -, onde a clorofila *a* é o principal pigmento do complexo coletor de luz (LHC) para as reações fotoquímicas (Taiz e Zeiger, 2009).

O conteúdo de clorofila *a*, *b* e índice SPAD foi significativamente influenciado pelos acessos e suspensão hídrica (Tabela 7). O maior conteúdo de clorofila *a* no acesso AusT foi observado na suspensão hídrica de 21 dias ($25,33 \mu\text{g g}^{-1}$), equivalente a um aumento de 118% em relação à suspensão hídrica de 7 dias ($11,63 \mu\text{g g}^{-1}$). Os acessos de 43F e 89F apresentaram redução em conteúdo de clorofila *a*, $13,95 \mu\text{g g}^{-1}$ e $17,51 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente, em suspensão hídrica de 21 dias. Esses resultados indicam menor captação luminosa nos acessos de *D. pernambucanus* devido à maior degradação da clorofila *a* em suspensão hídrica de 21 dias.

Tabela 7. Conteúdo de clorofila *a*, de clorofila *b* e índice de SPAD em acessos de *Desmanthus* spp. cultivados em duas suspensões hídricas.

Acessos	Suspensão hídrica					Nível de P
	7 dias		21 dias			
Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g g}^{-1}$)						
43F	15,36	B	13,95	C		0,8554
89F	19,89	A	17,51	B		0,4808
AusT	11,63	C	25,33	A		0,0003
Desvio padrão	0,93					
Coefficiente de variação (%)	10,81					
Clorofila <i>b</i> ($\mu\text{g g}^{-1}$)						
43F	8,47	B	8,72	B		0,9415
89F	16,82	A	10,85	A		<0,0001
AusT	8,23	B	10,48	A		0,0020
Desvio padrão	0,21					
Coefficiente de variação (%)	3,90					
SPAD						
43F	16,76	B	11,60	A		<0,0001
89F	18,55	A	11,71	A		<0,0001
AusT	15,25	C	11,99	A		<0,0001
Desvio padrão	0,16					
Coefficiente de variação (%)	2,23					

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F diferem entre suspensão hídrica.

Em relação ao conteúdo de clorofila *b* (Tabela 7), observou-se que o acesso 89F apresentou maior valor de $10,85 \mu\text{g g}^{-1}$, quando as plantas foram submetidas à suspensão hídrica de 21 dias, não diferenciando do acesso AusT ($10,48 \mu\text{g g}^{-1}$). Mesmo o acesso AusT não apresentando diferença de clorofila *b* do acesso 89F em suspensão hídrica de 21 dias, observou-se aumento de 27% da suspensão hídrica de 7 dias ($8,23 \mu\text{g g}^{-1}$) para de 21 dias ($10,48 \mu\text{g g}^{-1}$), diferentemente do que ocorreu no acesso 89F, que apresentou redução de 35%. O acesso 43F apresentou menor clorofila *b* de $8,72 \mu\text{g g}^{-1}$, em suspensão hídrica de 21 dias, o que pode ter provocado a foto-inibição e diminuição da eficiência fotossintética dessas plantas. Portanto, o acesso AusT que apresentou aumento no conteúdo de clorofila *b*, quando as plantas foram submetidas à suspensão hídrica de 21 dias ($10,48 \mu\text{g g}^{-1}$), têm melhor capacidade de tolerar essa condição, considerando à estreita relação entre clorofilas, potencial fotossintético e produtividade, como relatado por O'Neill et al. (2006).

Para o índice de SPAD, a suspensão hídrica de 21 dias reduziu os valores na ordem de 30%. Os valores de índice de SPAD encontrados indicam deficiência de clorofila, revelando deficiência no processo fotossintético, segundo Torres Netto et al. (2005). Entretanto, esse índice não seria a melhor técnica indicada para mensurar teor de pigmentos fotossintéticos nas plantas submetidas à suspensão hídrica de 21 dias, como observado no resultado de correlação com as clorofilas *a*, *b* e totais (Tabela 8).

Observa-se que sob suspensão hídrica de 7 dias, o índice SPAD e as clorofilas *a*, *b* e totais foram correlacionadas entre si, positiva e significativamente. Sob suspensão hídrica de 21 dias o índice SPAD não apresentou correlação entre as clorofilas *a* (0,461), *b* (0,366) e totais (0,466). Portanto, nas suspensões hídricas de 21 dias, o índice SPAD mostra-se como técnica inapropriada para avaliação dos teores de pigmentos fotossintéticos em acessos de *Desmanthus* spp. sob suspensão hídrica de 21 dias. Em contrapartida, a alta e positiva correlação do índice de SPAD nas clorofilas *a* (0,851**), *b* (0,893**) e totais (0,866**) nas plantas submetidas à suspensão hídrica de 7 dias demonstra que a técnica é confiável para esse tratamento, tendo a vantagem de ser não destrutiva e rápida para avaliação dos teores de pigmentos fotossintéticos em acessos de *Desmanthus* spp. nessa condição de suspensão hídrica.

Tabela 8. Correlação entre índice SPAD, clorofilas (*a* e *b*) e clorofila total (*a+b*), em acessos de *Desmanthus* spp. sob duas suspensões hídricas.

	Suspensão hídrica de 7 dias		
	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila total
Clorofila <i>a</i>		0,764**	0,741**
Clorofila <i>b</i>	0,764**		0,993**
Clorofila total	0,741**	0,993**	
SPAD	0,851**	0,893**	0,866**
	Suspensão hídrica de 21 dias		
	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila total
Clorofila <i>a</i>		0,598*	0,986**
Clorofila <i>b</i>	0,598*		0,502 ^{ns}
Clorofila total	0,986**	0,502 ^{ns}	
SPAD	0,461 ^{ns}	0,366 ^{ns}	0,466 ^{ns}

**significativo a 0,01; *significativo a 0,05; ^{ns} não significativo.

Não houve efeito da interação acesso vs. suspensão hídrica para a prolina livre nas folhas frescas, mas ocorreu efeito isolado de acesso e suspensão hídrica. Houve incremento de prolina nas folhas dos acessos de *Desmanthus* spp., quando submetidos à suspensão hídrica de 21 dias.

A média dos teores de prolina nas folhas das plantas submetidas à suspensão hídrica de 7 dias foi de 16,03 mg kg⁻¹ e a média dos teores de prolina nas folhas das plantas submetidas à suspensão hídrica de 21 dias foi de 90,22 mg kg⁻¹ em folhas frescas, revelando acúmulo na ordem de 463% de prolina livre nas folhas submetidas à maior suspensão hídrica. Resultados semelhantes de acúmulo de prolina em plantas sob estresse hídrico também foram observados por Pereira et al. (2012), com cinco genótipos de amendoim, submetidos a estresse hídrico moderado, durante 7 dias, em casa de vegetação, tendo verificado aumento da concentração de prolina livre em todas as plantas sob a condição de estresse, sendo o acúmulo maior observado na cultivar resistente (55437), na ordem de 105%.

Azevedo Neto et al. (2009) também avaliaram folhas e raízes da cultivar 55437 (*Arachis hypogaea*), juntamente com outras três espécies selvagens (*A. duranensis*, *A. ipaensis* e *A. stenosperma*), submetidas a 45 dias de estresse hídrico, e encontraram acúmulo de prolina nas folhas na ordem de 233%. Segundo os autores, as raízes apresentaram acúmulo menos expressivo que nas folhas.

De acordo com Alia (2003), a prolina constitui menos que 5% dos aminoácidos totais livres em plantas mantidas sob condições normais, enquanto em plantas submetidas ao estresse hídrico, a concentração de prolina pode chegar a 80% do *pool* total de aminoácidos. Assim, o acréscimo observado de prolina nas plantas submetidas à suspensão hídrica de 21 dias revela uma resposta às tensões provocadas pela desidratação do tecido da planta. Considerando relatos de Yancey (2005), o acúmulo de prolina funcionou como

um ajuste osmótico celular, onde, segundo Verslues e Sharma (2010), podem ter atuado como “substitutos de água” para estabilizar a estrutura celular através de interações hidrofílicas e ligações de hidrogênio. Entretanto, é importante estar atento, conforme Monteiro et al. (2014), que tal proteção é eficaz apenas em pequenos períodos de tempo.

Considerando a concentração de prolina livre nas folhas frescas por acesso, observou-se concentrações maiores e significativas do acesso 43F (89,46 mg kg⁻¹), em comparação aos acessos 89F (45,91 mg kg⁻¹) e AusT (45,01 mg kg⁻¹). O acúmulo maior de prolina no acesso 43F pode justificar os baixos resultados de MS e maior produção desse acesso. Contudo, não foi suficiente para ser usada como fonte de energia, redistribuindo nitrogênio e carbono, para a recuperação de atividades fisiológicas na planta, como citam Szabados e Savouré (2010) e Hemaprabha et al. (2013).

Para os carboidratos solúveis totais (CHO), observou-se efeito de interação entre acessos e suspensão hídrica (Tabela 9). Verificou-se elevação da concentração de CHO nas folhas dos acessos de *Desmanthus* spp. submetidos à suspensão hídrica. Entretanto, os acessos 43F e 89F apresentaram as maiores concentrações em CHO de 32,62 e 33,07 g kg⁻¹, respectivamente, no tratamento de suspensão hídrica de 21 dias, o que representa aumento de 28 e 51%, respectivamente, em relação ao tratamento de suspensão hídrica de 7 dias. Tal aumento está relacionado à finalidade de se manter o nível de água da folha e induzir um ajustamento osmótico na planta, visando o equilíbrio osmótico da célula. Já o acesso AusT apresentou menor concentração em CHO de 13,64 g kg⁻¹ na suspensão hídrica 21 dias, redução de 38% de quando tratados com suspensão hídrica de 7 dias.

Tabela 9. Carboidratos solúveis totais (g kg^{-1}) em frações de acessos de *Desmanthus* spp., submetidos a diferentes períodos de suspensão hídrica.

Acessos	Suspensão hídrica				Nível de P
	7 dias		21 dias		
	Folha (g kg^{-1})				
43F	25,42	A	32,62	A	<0,0001
89F	21,90	B	33,07	A	<0,0001
AusT	22,10	B	13,64	B	<0,0001
Desvio padrão	0,16				
Coeficiente de variação (%)	1,27				
Caule (g kg^{-1})					
43F	12,27	A	13,39	A	0,1584
89F	9,74	B	12,25	B	0,0045
AusT	13,31	A	11,99	B	0,0898
Desvio padrão	0,34				
Coeficiente de variação (%)	5,61				
Raiz (g kg^{-1})					
43F	11,21	C	10,00	C	<0,0001
89F	13,80	A	10,75	B	<0,0001
AusT	13,29	B	12,51	A	0,0017
Desvio padrão	0,09				
Coeficiente de variação (%)	1,45				

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F diferem entre suspensão hídrica.

Na fração caule, o acesso 89F apresentou aumento de 26% em CHO, quando submetido à suspensão hídrica de 21 dias. Já os acessos 43F e AusT mantiveram a concentração de CHO entre suspensão hídrica de 13,39 e 11,99 g kg^{-1} , respectivamente. O acesso 43F apresentou maior CHO dentre os acessos estudados na fração caule, no tratamento de suspensão hídrica de 21 dias. Reduções na concentração de CHO foram observadas em todos os acessos, na fração raiz, quando submetidos à suspensão hídrica de 21 dias.

A maior concentração de CHO nas folhas dos acessos 43F e 89F e menor nas raízes pode estar relacionada à estratégia de tolerância dessas plantas à situação de baixa umidade, onde os CHOs são desviados das raízes para serem utilizados como proteção para combater o estresse, atuando como regulador osmótico, e mantendo os níveis de água nas folhas, bem como o equilíbrio osmótico das células. Resultados de acúmulo de CHO (220,53%) e prolina (323,15%) também foram observados em folhas de *Tectona grandis*

(L.) F sob estresse hídrico de 9 dias, relatados por Castro et al. (2007), contribuindo no ajuste osmótico das plantas, evitando as perdas de água da célula, indicando possível defesa do vegetal sob condições adversas.

Observa-se que o acesso AusT, mesmo com menor CHO na fração folha, apresentou maiores resultados de PB, carbono, relação C:N (Tabela 6) e clorofila *a* e *b* (Tabela 7), o que indica que este acesso possa ter sofrido menos com a baixa disponibilidade de água, apresentando resultados mais eficientes em relação aos acessos 43F e 89F, que apresentaram aumentos de prolina e CHO. Contudo, não foram suficientes para se destacar do acesso AusT. Da mesma forma, observamos que as diferenças de variáveis quantitativas entre a suspensão hídrica de 7 e 21 dias no acesso AusT foi menor que os demais, além de ter apresentado aumento no comprimento das folhas sob suspensão hídrica. Mesmo os resultados de produção do acesso AusT sendo menor do que só acessos 43F e 89F, a harmonia das respostas dos caracteres quantitativos e qualitativo indicam, provavelmente, maior produção desse acesso às condições de suspensão hídrica, possibilitando melhor desempenho em campo.

Conclusões

A suspensão hídrica interfere nas características qualitativas e quantitativas dos acessos de *Desmanthus* spp.

Os acessos 43F e 89F são os mais susceptíveis à suspensão hídrica de 21 dias.

A ocorrência de acúmulo de prolina e carboidratos solúveis totais nos acessos 43F e 89F não regula proteína bruta, carbono, relação C:N e clorofilas *a* e *b*.

O acesso AusT é indicado para cultivo sob suspensão hídrica de 21 dias. Apresenta melhor comportamento quantitativo e maiores resultados qualitativos.

Possíveis cruzamentos, futuros, podem melhorar os resultados dos acessos 43F e 89F.

O índice SPAD não é indicado para avaliar *Desmanthus* spp. submetidos à suspensão hídrica de 21 dias.

Agradecimentos

Ao Professor Egídio Bezerra, Departamento de Química da UFRPE, pelo apoio nas análises. Ao laboratório Texas A&M AgriLife Research Bromotological Laboratory, Stephenville Texas USA. Ao CNPq, FACEPE e CAPES, pelo suporte financeiro à pesquisa.

Referências Bibliográficas

- ALIA, M. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline. In: ANNUAL USER MEETING OF THE FREE RADICAL RESEARCH FACILITY DARESBURY, 2003. Cheshire. **Proceedings...** Cheshire: Council for the Central Laboratory of the Research Councils, 2003.
- APOLINÁRIO, V.X.O. **Contribuição de leguminosas arbóreas em sistemas silvipastoris com *Brachiaria decumbens* STAPP.** 2014. Tese (Doutorado Integrado em Zootecnia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco/Universidade Federal da Paraíba/Universidade Federal do Ceará. Recife – PE, 109f, 2014.
- ARAÚJO, D.C.; SÁ, J.R.; LIMA, E.M.; CAVALCANTE, L.F.; BRUNO, G.B.; BRUNO, R.L.A.; QUEIROS, M.S. Efeito do volume de água e da cobertura morta sobre o crescimento inicial do maracujazeiro amarelo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 1, p. 121-124, 2000.
- ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplast: Polyphenoloxidase in *Beta Vulgaris*. **Plant Physiology**, v.24, p.1-15, 1949.
- AZEVEDO NETO, A.D.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; MELO FILHO, P.A.; SANTOS, R.C. Physiological and biochemical responses of peanut genotypes to water deficit, **Journal of Plant Interactions**, v.05, n.01, p.01-10, 2009.
- BARCELLOS, A.O.; RAMOS, A.K.B.; VILELA, L.; MARTHA JUNIOR, G.B. Sustentabilidade da produção animal baseada em pastagens consorciadas e no emprego de leguminosas exclusivas, na forma de banco de proteína, nos trópicos brasileiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.51-67, 2008. (Supl. especial).
- BARRY, T.N.; MCNABB, W.C. The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. **British Journal of Nutrition**, v.81, n.4, p.263-272, 1999.

BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L.P. **Analises químicas e bioquímicas em plantas.**

Recife: UFRPE, editora Universitária da UFRPE, 2011. 41-48p., 95-97p e 131-133p.

BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L.P. **Métodos de analises químicas em plantas.**

Recife: Imprensa Universitaria da UFRPE, 2004. 149p.

BORTOLINI, F.; DALL'AGNOL, M.; BISSANI, C.A.; Características morfofisiológicas associadas à tolerância à seca em sete genótipos da coleção nuclear de trevo branco. *Ciência Rural*, v.41, n.9, p.1632-1638, 2011.

CASTRO, D.S.; SANTOS, A.O.; SILVA LOBATO, A.K.; GOUVEA, D.D.S.; OLIVEIRA NETO, C.F.; CUNHA, R.L.M.C.; COSTA, R.C.L. Concentrações de Prolina e Carboidratos Solúveis Totais em Folhas Teca (*Tectona grandis* L.f) submetida ao Estresse Hídrico. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, supl.2, p.921-923, 2007.

CHAVES, M. M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**. v.42, p.1-16, 1991.

COOPER, C.E.; NAUMANN, H.D.; LAMBERT, B.D.; MUIR, J.P.; KATTES, D.H. Legume protein precipitable phenolic and nutrient concentration responses to defoliation and ontogeny. **Journal of Plant Interactions**, v.9, n.1, p.468-477, 2014.

CRUZ, S.E.S.B.S.; BEELEN, P.M.G.; SILVA, D.S.; PEREIRA, W.E.; BEELEN, R.; BELTRÃO, E.S. Caracterização dos taninos condensados das espécies maniçoba (*Manihot pseudoglazovii*), flor de seda (*Calotropis procera*), feijão bravo (*Capparis flexuosa*, L) e jureminha (*Desmanthus virgatus*). **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.4, p.1038-1044, 2007.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. Métodos para análise de alimentos - INCT - **Ciência Animal**, Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. 214p.

- DINIZ, W.P.S. **Caracterização morfológica e nutricional de acessos de *Desmanthus* spp.;** Carpina, Pernambuco. 2016. (Dissertação de Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE., Recife – PE, 71f, 2016.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). **Manual de métodos de análise de solo.** 2.ed.rev.atual. Rio de Janeiro, 1997. 212p. (EMBRAPA-CNPS. Documentos, 1).
- FAHN, A.; CUTLER, D.F. 1992. Xerophytes. Pp. 87-98. In: Spez (ed.). Encyclopedia of Plant Anatomy. Berlin, Gebrüder Borntraeger
- FIGUEIREDO, M.V.; GUIM, A., PIMENTA FILHO, E.C., SARMENTO, J.L.R., ANDRADE, M.V.M., PINTO, M.S.C., LIMA, J.A. Avaliação da composição bromatológica e digestibilidade "in vitro" do feno de *Desmanthus virgatus*. In: reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 37, Viçosa-MG, **Anais...** Viçosa: SBZ, p.29, 2000a.
- FOSTER, J.L.; MUIR, J.P.; LAMBERT, B.D.; PAWELEK, D. In situ and in vitro degradation of native Texas warm-season legumes and alfalfa in goats and steers fed a sorghum-sudan basal diet. **Animal Feed Science and Technology**, v.133, p.228-239, 2007.
- FREIRE, A.L.O; LEÃO, D.A.S.; MIRANDA, J.R.P. Acúmulo de massa seca e de nutrientes em gliricídia em resposta ao estresse hídrico e a doses de fósforo. **Ciências Agrárias**, v.33, p.19-26, 2012.
- GARDINER, C.P.; BURT, R.L. Performance characteristics of *Desmanthus virgatus* IN: contrasting tropical environments. **Tropical Grasslands**, v.29, n.3, p.183-187, 1995.
- GARDINER, C.; SWAN, S. 2008. Abandoned pasture legumes offer potential economic and environmental benefits in semiarid clay soil rangelands. **Proceedings...** of the Australian Range-land Conference, Charters Towers, Qld, Australia. 28th September–2nd October 2008.

- HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.26, p.809–812, 1978.
- HEMAPRABHA, G.; SWAPANA, S.; LAVANYA, D. L.; SAJITHA, B.; VENKATARAMANA, S. Evaluation of Drought Tolerance Potential of Elite Genotypes and Progenies of Sugarcane (*Saccharum* sp. hybrids). **Sugar Technology**, v.15, n.1, p.9- 16, 2013.
- JONES, R.M.; BRANDON, N.J. Persistence and productivity of eight accessions of *Desmanthus virgatus* under a range of grazing pressures in subtropical Queensland. **Tropical Grasslands**, v.32, p.145–152, 1998.
- KELLING, C.R.S. **Efeito da disponibilidade de água no solo sobre os componentes do balanço hídrico e o rendimento do feijoeiro**. 1995. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS, p.91, 1995.
- KIEHL, E.J. **Manual de edafologia**. São Paulo: Ceres, 1979. 191-215p.
- KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. **Water relations of plants and soils**. San Diego: Academic, 495p, 1995.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA, 2000. 531 p.
- LEINMÜLLER, E.; STEINGASS, H.; MENKE, K. Tannin in ruminant feedstuffs. **Animal Research and Development**, v.33, p.9-62, 1991.
- LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; Van SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, n.4, p.347-358, 1996.
- LUCKOW, M: **Monograph** of *Desmanthus* (*Leguminosae-Mimosoideae*), v.38, p.1-166, 1993.

- LUDLOW, M. M. 1976. Ecophysiology of C4 grasses. In: Ecological studies. Water and plant life. Problems and modern approach. Lange, O. L., Kappen, L. & Schulze, E. D. (Ed.) Springer-Verlag. Berlin. v.19, p.364-386.
- MIN, B.R.; BARRY, T.N.; ATTWOOD, G.T.; McNABB, W.C. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.106, p.3-19, 2003.
- MONTEIRO, J. G.; CRUZ, F. J. R.; NARDIN, M. B.; SANTOS, D. M. M. dos. Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, n.1, p.18-25, 2014.
- MUIR, J.P. The multi-faceted role of condensed tannins in the goat ecosystem. **Small Ruminant Research**, v.98, p.115–120, 2011.
- MUIR, J.P.; PITMAN, W.D.; FOSTER, J.L. Sustainable, lowinput, warm-season, grass-legume grassland mixtures: mission (nearly) impossible? **Grass Forage Science**, v.66, p.301-315, 2011.
- NASCIMENTO, I.B.; FARIAS, C.H.; SILVA, M.C.C.; MEDEIROS, J.F.; SOBRINHO, J.E.; NEGREIROS, M.Z. Estimativa da área foliar do meloeiro. **Horticultura Brasileira**, v.20, p.555-558, 2002.
- NAUMANN, H.D.; HAGERMAN, A.E.; LAMBERT, B.D.; MUIR, J.P.; TEDESCHI, L.O.; KOTHMANN, M.M. Molecular weight and protein-precipitating ability of condensed tannins from warm-season perennial legumes. **Journal of Plant Interactions**, v.9, p.212–219, 2014.
- O'NEILL, P. M.; SHANAHAN, J. F.; SCHEPERS, J. S. Use of chlorophyll fluorescence assessments to differentiate corn hybrid response to variable water conditions. **Crop Science**, Madison, v. 46, p. 681-687, 2006.

- PALUDO, A.; SANTOS, N.F.; MOREIRA, T.S.O.; OLIVEIRA, W.L.; SILVA, M.A.P. Feijão guandu em três diferentes alturas de corte na alimentação de ruminantes. **Revista Eletrônica Nutrime**, v.9, p.1981-1994, 2012.
- PEREIRA, J.M.; REZENDE, C.P.; BORGES, A.M.F. Atualidades e perspectivas da produção animais a pasto. Disponível em: [http://scholar.google.com.br/scholar?q=Jos%C3%A9+Marques+Pereira1%2C+C1%C3%A1udia+de+Paula+Erezende%2C+Augusto+Magno+Ferreira+Borges++&hl=pt-BR&btnG=Pesquisa&lr=\[Doc\] de Ceplac.gov.br](http://scholar.google.com.br/scholar?q=Jos%C3%A9+Marques+Pereira1%2C+C1%C3%A1udia+de+Paula+Erezende%2C+Augusto+Magno+Ferreira+Borges++&hl=pt-BR&btnG=Pesquisa&lr=[Doc] de Ceplac.gov.br). Acesso em: 02 Fevereiro 2012.
- PEREIRA, J.W.L.; MELHO FILHO, P.A.; ALBUQUERQUE, M.B.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; SANTOS, R.C. Mudanças bioquímicas em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico moderado. **Revista Ciência Agronômica**, v.43, n.4, p.766-773, 2012.
- QUEIROZ, I.V. **Ocorrência e germinação de sementes de *Desmanthus* sp. coletadas no semiárido pernambucano**. 2012. (Dissertação de Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE., Recife - PE. 65p. 2012.
- RAMOS, K.M.O.; FELFILI, J.M.; FAGG, C.W.; SOUSA-SILVA, J.C.; FRANCO, A.C. Desenvolvimento inicial e repartição de biomassa de *Amburana cearenses* (Allemao) A.C. Smith, em diferentes condições de sombreamento. **Acta Botanica Brasilica**, v.18 n.2, p.351-358, 2004.
- RANGEL, J.H.A; GARDINER, C.P. Stimulation of wool growth by *Desmanthus* spp. as a supplement to a diet of Mitchell grass hay. **Tropical Grasslands**, v.43, p.106–111, 2009.
- SANTOS, M.V.F.; LIRA, M.A.; DUBEUX JÚNIOR, J.C.B.; GUIM, A.; MELLO, A.C.L.; CUNHA, M.V. Potential of Caatinga forage plants in ruminant feeding. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.204-215, 2010. (Supl. especial).

- SANTOS, R.F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.2, n.3, p.287-294, 1998.
- SHARP, R.E. Interaction with ethylene: changing views on the role of abscisic acid in root and shoot growth responses to water stress. **Plant Cell Environment**, v.25, n.2, p.211-222, 2002.
- SILVA, M. C. C.; FONTES P. C. R.; VIANA R. G. Estimativa da área da folha da batateira utilizando medidas lineares. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 01, p. 83-87, 2008.
- SUKSOMBAT, W; BUAKEEREE, K. Effect of cutting interval and cutting height on yield and chemical composition of hedge lucerne (*Desmanthus virgatus*). **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.19, n.1, p.31-34, 2006.
- SZABADOS L., SAVOURE A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, v.15, p.89-97, 2010.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4a ed. Artmed, Porto Alegre, 2009, 820p.
- TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3a edição. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.
- TAIZ, L.; ZEIGER. **Plant Physiology**. California: The Benjamin/ Cummings Publishing Company, Inc., Redwood City, 1991.
- TEDESCHI, L.O.; CALLAWAY, T.R.; MUIR, J.P.; ANDERSON, R.C. 2011. Potential environmental benefits of feed additives and other strategies for ruminant production. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.291-309, 2011b.
- TORRES NETTO, A.; CAMPOSTRINI, E.; OLIVEIRA, J.G.; BRESSAN-SMITH, R.E. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. **Scientia Horticulturae**, v.104, n.2, p.199-209, 2005.

- TURNER, N.C.; JONES, M.M. Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation. In: Adaptation of plants to water and high temperature stress. Turner, N. C. e Kramer, P. J. (Ed.) Wiley Publ., New York. p.87-103, 1980.
- VAN SOEST, P.J. 1994. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd ed. Ithaca (NY): Cornell University Press.
- VERSLUES, P.E.; SHARMA, S. Proline Metabolism and Its Implications for Plant-Environment Interaction. **The American Society of Plant Biologists**, v.8, 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3244962/>>. Acesso em: 02 Jan de 2016.
- WOLFE, R.M.; TERRILL, T.H.; MUIR, J.P. Drying method and origin of standard affect condensed tannin (CT) concentrations in perennial herbaceous legumes using simplified butanol-HCl CT analysis. **Journal Science Food Agriculture**, v.88, p.1060-1067, 2008.
- YANCEY, P.H. Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. **Journal of Experimental Biology**, v.208, p.2819–2830, 2005.
- ZABALA, J.M.; GIAVEDONI, J.; TOMAS, P.A.; BUDINI, E.A. Variabilidad em caracteres morfológicos relacionados com la implantacion de *Desmanthus virgatus* (L.) Will. Y *Desmanthus psapalaceus* (lindm.) Burkat. **Agriscientia**, v.27, n.2, p.97-105, 2010.
- ZAPE - **Zoneamento Agroecológico do Estado de Pernambuco**/Fernando Barreto Rodrigues e Silva et al. Recife: Embrapa Solos - Unidade de Execução de Pesquisa e Desenvolvimento - UEP Recife; Governo do Estado de Pernambuco (Secretaria de Produção Rural e Reforma Agrária), 2001. CD-ROM.- (Embrapa Solos. Documentos; n. 35). Boletim de pesquisa final (pdf), 2001.

CAPÍTULO 4

Taxa de crescimento e Valor nutritivo de acessos de *Desmanthus pernambucanus* (L.) Thellung submetidos a dois intervalos de corte

Taxa de crescimento e Valor nutritivo de acessos de *Desmanthus pernambucanus* (L.) Thellung submetidos a dois intervalos de corte

Resumo - O intervalo de corte influencia a produção e características nutritivas das forrageiras. Objetivou-se avaliar características nutritivas de acessos de *Desmanthus pernambucanus* (L.) Thell (6G, 7G e AusTR) submetidos a dois intervalos de corte (75 ou 120 dias). O experimento foi conduzido em campo, no banco de germoplasma *in vivo* da Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no Município de Carpina- PE entre Março e Outubro de 2015. Apenas o acesso 6G apresentou uma queda na taxa de crescimento de suas plantas entre os intervalos de corte, com taxa de crescimento maior na estação chuvosa (intervalo de 75 dias) de 53,01 cm, e menor na estação seca (intervalo de 120 dias) de 11,01 cm. O intervalo de corte de 120 dias proporcionou 0,36% maior diâmetro do caule (2,29 cm), 41% maior matéria seca (MS) nas folhas (484,87 g kg⁻¹), 17,37% menor proteína bruta (PB) nas folhas (202,07 g kg⁻¹) e 194,47% maior ligação proteína-tanino (78,27 g kg⁻¹ de proteína precipitada em fenóis-PPP). O AusTR apresentou 14% maior MS (450,87 g kg⁻¹), com os acessos 6G e 7G, não diferindo entre si, apresentando valores de 397,87 e 393,03 g kg⁻¹, respectivamente. Maior média de PB foi encontrada no AusTR (233,91 g kg⁻¹) com valor de PPP de 36,85 g kg⁻¹, já os acessos 6G (214,44 g kg⁻¹) e 7G (210,54 g kg⁻¹) apresentaram menor PB (214,44 g kg⁻¹ e 210,54 g kg⁻¹, respectivamente) e maior PPP de 50,93 g kg⁻¹ e 69,50 g kg⁻¹, respectivamente. A relação C:N foi de 11,05 (AusTR), 12,37 (6G) e 12,48 (7G), indicando maior rapidez na liberação de nitrogênio na decomposição da fração folha do acesso AusTR em relação aos acessos 6G e 7G. O intervalo de corte de 120 dias diminuiu o desaparecimento *in vitro* da MS (DIVMS) nos acessos 6G e AusTR em 10 e 13%, respectivamente. O acesso 7G apresentou média de 614,32 em 75 dias e 617,11 em 120 dias em DIVMS. Intervalos de 75 dias entre cortes para plantas da espécie *D.*

pernambucanus são mais indicados, permitindo melhor desempenho nutricional e maior taxa de crescimento das plantas. O acesso AusTR apresenta as maiores taxas de crescimento e melhor desempenho nutritivo.

Palavras chave: desaparecimento *in vitro* da matéria seca, leguminosa nativa, nitrogênio, tanino condensado.

***Desmanthus pernambucanus* (L.) Thellung rate of growth and nutritive value under to two cutting intervals**

Abstract – Cutting interval influences forage yield and nutritive value. The objective was to evaluate nutritive values of *Desmanthus pernambucanus* (L.) Thell (6G, 7G) and *D. pubescens* B. L. Turner (AusTR) submitted to 75 or 120-day cutting intervals. The field trial took place at the Experimental Cane Sugar Carpina, Federal Rural University of Pernambuco, Carpina City between March and October 2015. 6G exhibited greater growth in the rainy season at 75-day intervals (53.01 cm) compared to the dry season 120-day interval (11.01 cm). The 120-day interval resulted in 0.36% greater stem diameter (2.29 cm), 41% greater leaf DM content (484.87 g kg⁻¹), 17.4% more leaf crude protein (CP; 202.07 g kg⁻¹), with 194.5% greater binding to condensed tannins (CT), where 78 g protein precipitable phenols (PPP) kg⁻¹ were measured vis-à-vis plants cut at 75-day intervals. Compared to 6G and 7G, which did not differ from each other, AusTR had 14% greater DM (450 g kg⁻¹). AusTR (233 g kg⁻¹) had 10% greater CP compared to other accessions which had an average 36.9%, and 47% less PPP (36.9 g kg⁻¹) compared to the 7G access which had an average 69.50 g kg⁻¹. AusTR C:N ratio was 11.05, indicating greater N liberation during leaf decomposition compared to 6G with 12.37, and 7G with 12.48. In vitro DM disappearance for 6G was 652 g kg⁻¹, 614 for 7G, and 667 for AusTR at 75-day intervals and 586, 617 and 581 g kg⁻¹, respectively, for 120-day intervals. Seventy-five-day cutting intervals for these *Desmanthus* species resulted in the best nutritional values and yields compared to 120-day intervals. Compared to the *D. pernambucus* accessions, AusTR had greater regrowth and nutritive value.

Key words: in vitro dry matter disappearance, native legumes, condensed tannins, nitrogen.

Introdução

Avaliação de ecotipos por meio de estudos agrônômicos e fisiológicos dos acessos, através de ensaio de competição e cortes, é uma das primeiras etapas para estudos de melhoramento de plantas forrageiras. Os acessos selecionados são submetidos à avaliação de grandes parcelas sob pastejo, observando a palatabilidade e persistência, daí então passam pelas demais etapas, como produção e tecnologia de sementes; ensaio com desempenho animal, sendo assim, liberadas para cultivo (Dall'agnol e Scheff-Basso, 2004).

O grande desafio da pecuária no semiárido é utilizar os recursos da caatinga preservando sua sustentabilidade. Várias alternativas de exploração têm sido propostas, porém quase todas apresentam grandes limitações em decorrência da alta variabilidade temporal e espacial da acumulação da fitomassa, que está diretamente dependente das condições da precipitação da região.

O gênero *Desmanthus*, composto por 24 espécies de leguminosas naturalmente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais das Américas, com maior diversidade no México (14 espécies) e sul do Texas, EUA (8 espécies) (Lucrow, 1993; Muir et al., 2014), vem sendo motivo de diversos estudos, principalmente pela presença de espécies nativas na região semiárido Nordestina, onde as irregularidades pluviométricas selecionam a vegetação da região.

Segundo Santos et al. (2008), *Desmanthus virgatus* apresenta alto índice de preferência no processo de seletividade por ovinos, em pastejo na Caatinga. Representações de espécies de *Desmanthus* spp. são utilizadas como fonte alternativa na alimentação de ruminantes (Suksombat e Buakeeree, 2006; Cruz et al., 2007; Rangel e Gardiner, 2009). Assim como fonte de nitrogênio, através da fixação desse elemento no

solo, economicamente viável (Brandon et al., 1998; Araújo et al., 2011; Freitas et al., 2011).

O manejo de corte em ecotipos de planta forrageira é de grande importância para sua persistência, produção e qualidade, tendo em vista o conhecimento da utilização de intensidade (proporção e o estágio fisiológico da planta ou parte que foi removida pelo pastejo ou corte) e frequência (intervalo de tempo entre desfolhas sucessivas) de corte destes, podendo assim selecionar e determinar ecotipos para cada forma de utilização. Entretanto, Diniz (2016) trabalhando com acessos de *Desmanthus* spp., observou que intensidades de corte de 40 e 80 cm não influenciam as características de valor nutritivo, fracionamento de proteína e fixação biológica de nitrogênio dessas plantas cultivadas em condições da Zona da Mata Norte de Pernambuco.

Com isso, a importância do conhecimento das intensidades de cortes mais indicadas para espécies de *Desmanthus* spp. podem garantir melhor qualidade de material fornecido aos animais, além do que, o intervalo de corte pode afetar o potencial de rebrota e a persistência das espécies. Geralmente, longo intervalo entre cortes ocasiona maior deposição de material fibroso, diminuição do valor nutritivo e, conseqüentemente, do consumo. Por outro lado, cortes muito frequentes reduzem o total de forragem produzida, diminuem as reservas das plantas e afetam o potencial de rebrota (Canto et al., 1984). Dessa forma, deve-se procurar o ponto mais adequado para o corte buscando-se aliar a maior produção com a melhor qualidade da forragem.

Diante disto, o presente estudo objetivou avaliar aspectos qualitativos de acessos de *Desmanthus pernambucanus* (L.) Thellung cultivados no banco de germoplasma *in vivo* da UFRPE sob dois intervalos de corte.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em campo, no banco de germoplasma *in vivo* da Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no Município de Carpina - PE (EECAC) (7°51'13"S, 35°14'10"W, a 180 m de altitude), em Março e Outubro de 2015. O clima da região, conforme Köppen, é do tipo Ams, tropical chuvoso de monção, com verão seco. O solo da área experimental é classificado como ARGISSOLO AMARELO DISTRÓFICO ABRUPTO (Santos et al., 2006), de textura arenosa e argilosa. A caracterização química do solo foi realizada em amostras coletadas nas camadas de 0–20 cm (Tabela 1), no laboratório de Fertilidade da EECAC.

Tabela 1. Fertilidade de amostras do solo da área experimental.

pH	P ¹	Ca	Mg	Na	K	Al	SB ²	CTC ³	V ⁴	M.O. ⁵
H ₂ O	mg/dm ³		cmolc/dm ³				%			
5,2	40	3,80	1,40	0,09	0,28	0,1	5,56	11,16	49,84	25,3

¹Mehlich 1; ²Soma de bases; ³Capacidade de troca de cátions. ⁴Saturação por bases; ⁵Matéria orgânica do solo.

A precipitação pluviométrica da região durante o período experimental é apresentada na Figura 1.

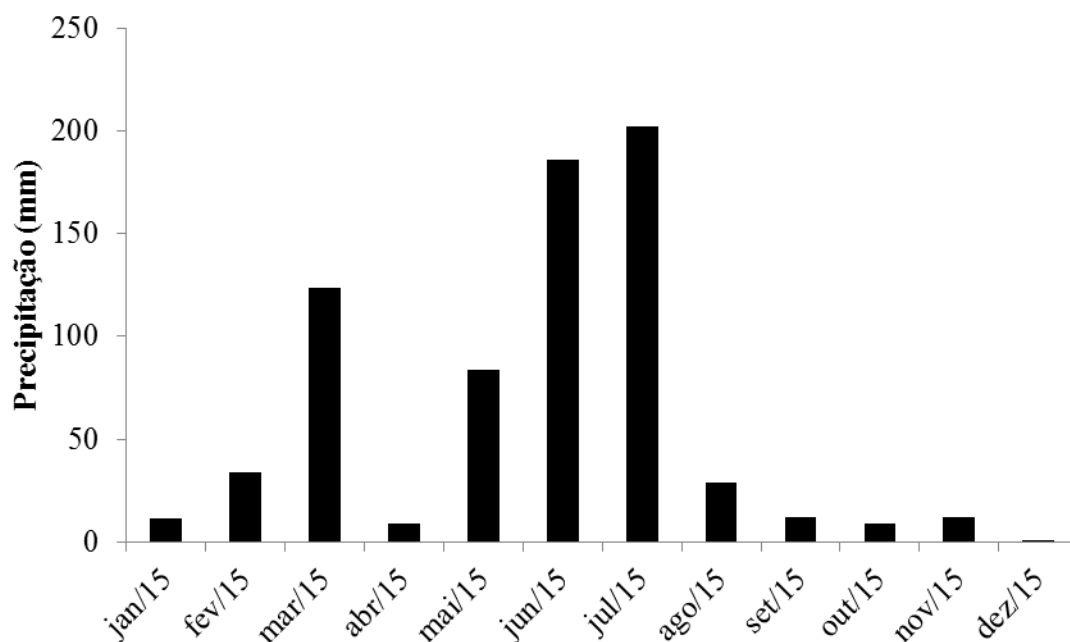


Figura 1. Precipitação pluvial mensal na Estação Experimental de Cana de açúcar de Carpina, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no Município de Carpina, PE, durante período experimental.

O campo experimental foi estabelecido em 2012, utilizando-se mudas produzidas por sementes oriundas de diferentes municípios. O espaçamento utilizado foi de 0,5 m entre plantas e 1,0 m entre linhas (0,5 x 1,0 m). A área do campo experimental foi de 20 x 30 m totalizando 600m².

Foram avaliados três acessos da espécie *Desmanthus pernambucanus* (L.) Thellung (Tabela 2), onde dois acessos (6G e 7G) (classificados pelo herbário do Instituto Agrônomo de Pernambuco – Fomento Internacional do Brasil LTDA (FIB) nº 02/2012), provenientes de coletas realizadas no município de Santa Cruz do Capibaribe - PE (Queiroz, 2012), e um acesso fornecido pela Embrapa Tabuleiros Costeiros- SE (oriundo do Banco de Germoplasma da Austrália – CSIRO, “comunidade de pesquisa científica e industrial”).

Tabela 2. Identificação dos acessos de *Desmanthus pernambucanus* (L.) Thellung avaliados, Estação Experimental de cana de açúcar da UFRPE, Carpina (PE).

Identificação de acessos de <i>D. pernambucanus</i>		Origem
6G*		Santa Cruz do Capibaribe – Pernambuco (BR)
7G*		Santa Cruz do Capibaribe – Pernambuco (BR)
AusTR**		Brasil
* Queiroz (2012).	**	Embrapa-Sergipe (BR). Disponível em: < http://www2.dpi.qld.gov.au/extra/asp/AusPGRIS/Scripts/Display_Summary_Statistics.asp?whichOne=Genus_Accessions&match=Desmanthus >. AusTR = AusTRCF49728.

Os acessos foram cultivados em fileiras sendo realizadas análises morfológicas e colheitas de material nos meses de Março e Outubro de 2015 para acompanhamento do comportamento em campo e estimativa da qualidade forrageira, considerando-se intervalos de 75 dias e 120 dias, períodos chuvoso e seco, respectivamente.

A partir das 8:00 h da manhã foram realizadas avaliações de altura da planta, medida do nível do solo ao ápice da planta, utilizando-se uma trena graduada (cm), onde se determinou a taxa de crescimento pela diferença de altura após corte anterior aos intervalos determinados de 75 e 120 dias; e diâmetro da base do caule, medido com o auxílio de um paquímetro (cm). Em seguida, as plantas foram submetidas a cortes para avaliação química, contudo, por ocasião da colheita e devido à morte de alguns acessos e baixo crescimento das plantas (Diniz 2016), obteve-se material para análise de três acessos e quatro plantas experimentais.

O material coletado depositado em sacos plásticos identificados, foi submetido à pesagem de material total em balança, seguindo com a separação de folha/caule e realizada nova pesagem para determinação de matéria seca. Após a obtenção do peso dos materiais, estes foram levados à estufa de circulação forçada de ar a 55°C até peso constante. Após a secagem do material, foi realizada a pesagem do material seco e moídos em moinho de Willey, em malha de 1 mm e armazenados separadamente em folha e ramos em sacos plásticos identificados, prosseguindo com as determinações analíticas de matéria seca

(MS), tanino condensado (PPP), proteína bruta (PB), relação carbono/nitrogênio (C/N) e desaparecimento *in vitro* da matéria seca (DIVMS).

A determinação de matéria seca do material (MS expresso em g/kg) fracionado em folhas e ramos (até 5 mm) seguiu a metodologia descrita por Detmann et al. (2012).

Estimou-se o tanino condensado pela técnica de proteína precipitada em fenóis (PPP) de acordo com Hagerman e Butler (1978). O método reduzido modificado para determinar PPP (Naumann et al., 2014) foi feito em dois extratos vegetais bruto duplicados. Foram purificados TC para utilização subsequente como um padrão a partir de amostras secas de cada espécie, através da modificação do método descrito por Wolfe et al. (2008), usando Sephadex LH-20 (GE Healthcare Bio-Sciences Corp., Piscataway, NJ, EUA).

Para determinação de nitrogênio e carbono, as amostras foram analisadas para N por combustão, usando um analisador de C:N (Elementar Americas, Inc, Mt. Laurel, NJ, EUA). Com os dados de nitrogênio, foi possível calcular a proteína bruta (PB) através da multiplicação por 6,25 (Van Soest, 1994).

O desaparecimento *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi realizado em incubadoras Daisy (Ankom Margarida II Incubadora Ankom Technologies, Macedônia NY, EUA), utilizando líquido ruminal de veados de cauda branca. As concentrações da DIVMS foram determinadas durante 48h. Este sistema compete (Tilley e Terry 1963) em duas fases na técnica digestibilidade *in vitro* (Coblentz et al., 1997), e lavagem da amostra com detergente neutro (Van Soest et al., 1991), em vez de uma solução de pepsina. Os resíduos foram corrigidos para cinzas residuais.

Análises de tanino condensado, carbono, nitrogênio e desaparecimento *in vitro* da matéria seca foram realizadas em Texas A&M AgriLife Research Bromatological Laboratory, Stephenville Texas USA. Produção de massa foi realizada no laboratório de

química da EECAC e a matéria seca foi realizada no laboratório de forragicultura da UFRPE.

Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado em arranjo de parcelas subdivididas, com quatro repetições. Os acessos de *D. pernambucanus* representaram as parcelas e os dois intervalos de corte (75 dias e 120 dias) as subparcelas. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos acessos foram comparadas pelo Teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Para comparação de intervalo de corte utilizou-se teste F através do software SAS. Foi testado o efeito de acessos e intervalos de corte para as variáveis analisadas. O valor $P \leq 0,05$ foi considerado significativo.

Resultados e Discussão

Os resultados da análise de variância revelaram efeitos significativos na interação para acessos vs. intervalos de corte da taxa de crescimento (a cada 21 dias) das plantas de *D. pernambucanus* (Tabela 3). O acesso 6G apresentou uma queda na taxa de crescimento de suas plantas entre os intervalos de corte, com taxa de crescimento maior na estação chuvosa (intervalo de 75 dias) de 53,01 cm, e menor na estação seca (intervalo de 120 dias) de 11,01 cm.

Tabela 3. Taxa de crescimento (cm) dos acessos de *Desmanthus* spp. durante intervalo de corte de 75 dias e 120 dias.

Acessos	Intervalo de corte		Nível de P*
	75 dias	120 dias	
6G	53,01 A	11,01 B	0,0115
7G	40,01 A	22,60 B	0,2755
AusTR	48,51 A	54,01 A	0,9558
Desvio padrão	5,13		
Coefficiente de variação (%)	2,43		

Médias seguidas de letras maiúsculas, distintas na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F diferem entre intervalos de corte.

Dentro do intervalo de corte de 75 dias, as espécies de *D. pernambucanus* não diferiram entre si, diferentemente do que ocorre no intervalo de corte de 120 dias, quando o acesso AusTR se destaca apresentando as maiores taxas de crescimento, de 54,01 cm, entre os acessos 6G (11,01 cm) e 7G (22,60 cm).

O acesso AusTR manteve sua taxa de crescimento entre os intervalos de corte de 75 dias (48,51 cm) e 120 dias (54,01 cm), assim como o acesso 7G no intervalo de corte de 75 dias (40,01 cm) e 120 dias (22,60 cm). Contudo, o acesso AusTR se destaca em relação ao acesso 7G por apresentar maior taxa de crescimento equivalente a 2,39 vezes. Dessa forma, os dois meses anteriores, com precipitação máximas de 50 mm por mês, a avaliação de 120 dias não foram suficientes para estacionar o crescimento das plantas dos acessos 7G e AusTR, que continuaram crescendo na mesma velocidade que o período chuvoso (75 dias).

Devido à origem dos acessos 6G e 7G, oriundos do município de Santa Cruz do Capibaribe, que apresenta precipitação na ordem de 457 mm anuais a temperatura média de 24,6°C (CLIMATE-DATA.ORG), esperava-se uma resposta similar entre eles. Contudo, o acesso 6G apresentou uma queda na taxa de crescimento, quando avaliado no período seco, diferentemente do comportamento do acesso 7G. Essa queda de crescimento apresentada nas plantas do acesso 6G pode ser ocasionada como estratégia de sobrevivência a provável diminuição da umidade do solo e alta evapotranspiração ocorrente em período seco. O que influenciará retardos ou interrupções da expansão e divisão celular, acarretando diminuição da taxa de crescimento.

Para o diâmetro do caule basal, as plantas apresentaram diferença significativa no efeito de intensidade de corte. O intervalo de corte de 120 dias proporcionou maior diâmetro do caule de 2,29 cm, o equivalente a 0,36% em relação ao intervalo de corte de 75 dias (1,69 cm), o que revela que o crescimento do diâmetro de caule basal continuou apesar da baixa precipitação decorrente desde o mês de Agosto, diferentemente do que ocorreu com a taxa de crescimento. Entretanto, entre os meses de Maio e Julho ocorreram precipitações de até 200 mm, principalmente em Julho, o que pode ter ocasionado um “pulso” de alongamento e expansão celular nos tecidos do caule dessas plantas.

A associação do diâmetro do caule á altura das plantas representa um dos fatores de grande importância na avaliação de rebrota das plantas, onde o número de pontos de crescimento distribuídos ao longo do caule e a quantidade de reservas contribuem para o processo de rebrota. Dessa forma, a persistência/sobrevivência dessas plantas aumenta quanto maior for o desenvolvimento em diâmetro, dando-se também a possibilidade da realização de produção por estaquia. Considerando que o período seco não estabilizou o desenvolvimento do diâmetro do caule, podemos afirmar que provavelmente o acesso AusTR, que apresentou as maiores taxas de crescimento no período seco, apresenta maior

número de pontos de crescimento e mais reservas, não subestimando o acesso 7G que manteve a taxa de crescimento, porém menor que o acesso AusTR.

A matéria seca (MS), proteína bruta (PB), proteína precipitada em fenol (PPP) e relação C:N da fração folha das plantas de *D. pernambucanus* apresentaram efeito isolado de intervalos de corte (Tabela 4) e acessos (Tabela 5). Comparando a MS entre intervalos de corte, verificou-se que com o avanço da idade das plantas, houve aumento de MS. O intervalo de corte de 120 dias proporcionou maior MS da fração folha (484,87 g kg⁻¹), o equivalente a 41% em relação ao intervalo de 75 dias (342,98 g kg⁻¹). Plantas com menor idade de corte apresentam altos teores de água, quanto mais próximo da sua maturidade esse teor é reduzido e ocorre um aumento nos teores de MS (Drudi & Favoretto, 1987).

Tabela 4. Matéria seca (MS), proteína bruta (PB), proteína precipitada em fenóis (PPP) e relação carbono:nitrogênio (C:N) de frações folha da planta de *D. pernambucanus* em relação ao efeito de intervalo de corte.

Variável	Intervalo de corte		Nível de P	Desvio padrão	CV (%)
	75 dias	120 dias			
MS (g kg ⁻¹)	342,98	484,87	0,0012	8,64	7,23
PB (g kg ⁻¹)	237,18	202,07	0,0005	4,03	8,05
PPP (g kg ⁻¹)	26,58	78,27	0,0028	4,77	48,13
Relação C:N	10,84	13,10	0,0003	0,24	9,39

Médias significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F diferem entre intervalos de corte. CV = Coeficiente de variação.

Tabela 5. Proteína bruta (PB), proteína precipitada em fenóis (PPP) e relação carbono:nitrogênio (C:N) da fração folha em relação ao efeito de acessos de *D. pernambucanus*.

Acessos	MS (g kg ⁻¹)	PB (g kg ⁻¹)	PPP (g kg ⁻¹)	Relação C:N
6G	397,87 B	214,44 B	50,93 B	12,37 A
7G	393,04 B	210,54 B	69,50 A	12,48 A
AusTR	450,87 A	233,91 A	36,85 B	11,05 B
Desvio padrão	11,01	4,53	7,13	0,29
CV (%)	7,23	8,05	48,13	9,39

Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si (P<0,05) pelo teste de Tukey. CV = Coeficiente de variação.

O intervalo de corte indicou comportamento diferente para PB, causando uma diminuição com o aumento de 120 dias de crescimento após o corte. A maior PB foi verificada no intervalo de corte de 75 dias (237,18 g kg⁻¹), chegando a atingir 17,37%,

diferenciando estatisticamente do intervalo de 120 dias (202,07 g kg⁻¹). Os elevados valores de PB observados no intervalo de corte de 75 dias, provavelmente, devem-se à maior quantidade de folhas novas coletadas no corte das plantas nesse intervalo de corte, diferentemente do corte no intervalo de 120 dias.

Em relação aos acessos (Tabela 5), o AusTR apresentou maior MS (450,87 g kg⁻¹), com os acessos 6G e 7G, não diferindo entre si, apresentando valores de 397,87 e 393,03 g kg⁻¹, respectivamente. Revelando que as folhas do acesso AusTR foram as que apresentaram maior diminuição de teor de água quando submetidas a maior intervalo de corte. Em relação a PB, o acesso que apresentou maior média foi o AusTR (233,91 g kg⁻¹), já os acessos 6G (214,44 g kg⁻¹) e 7G (210,54 g kg⁻¹) apresentaram menor PB.

Os valores de PB observados estão de acordo com os relatados em leguminosas, segundo Nicodemo et al. (2015), onde observa-se também redução de PB à medida que aumenta o intervalo de corte das plantas. Trabalhando com *Desmanthus* spp., Diniz (2016), também observou altos valores de PB com média de 227,98 g kg⁻¹ nas folhas das plantas. Resultados de PB inferiores aos encontrados neste trabalho foram observados em folhas de *Progardes*TM, mistura das melhores espécies *Desmanthus bicornutus* S. Watson., *Desmanthus leptophyllus* Kunth. e *Desmanthus virgatus* (L.) Willd., apresentando valor de 202 g kg⁻¹ de PB (Gardiner e Swan, 2008), e em trabalho de Figueiredo et al. (2000a) com *Desmanthus virgatus* (L.) Willd. no brejo paraibano, com valores de 170 g kg⁻¹ para 395 dias de crescimento e de 202 g kg⁻¹ para 72 dias de rebrota.

Contudo, os altos valores de PB encontrados, podem não estar prontamente disponíveis aos animais, como menciona Diniz (2016). A autora relata que a PB pode se associar à fibra em detergente ácido (FDA) ou até mesmo ao tanino condensado (TC). De acordo com os dados observados de proteína precipitada por fenóis (PPP), correspondente a associação da proteína ao TC (Tabela 4), observa-se a ocorrência dessa ligação,

principalmente quanto maior for o intervalo de corte. Foi observado efeito isolado de PPP nas folhas de *D. Pernambucanus* para o intervalo de corte e entre acessos. A PB das folhas no intervalo de 120 dias apresentou uma alta ligação aos TC, onde foram observados valores de $78,27 \text{ g kg}^{-1}$ de PPP nesse intervalo, um acréscimo equivalente a 194,47% do valor de PPP no intervalo de 75 dias ($26,58 \text{ g kg}^{-1}$).

A PB do material coletado complexado ao TC passa a apresentar alta resistência às enzimas microbianas, ficando indigestível ao longo do trato gastrintestinal (Licitra et al., 1996). De fato, os menores intervalos de corte apresentaram maior número de folhas mais novas, disponibilizando maior PB ($237,18 \text{ g kg}^{-1}$) aos animais. Por outro lado, os resultados de presença de PPP nos dois intervalos de corte podem revelar efeitos positivos sobre o metabolismo animal. Segundo Leinmuller et al. (1991), o complexo tanino-proteína é favorecido em variação de pH entre 3,5 a 7,0, o que revela uma dissociação destes ao chegar no abomaso, onde o pH está em torno de 2,0, permitindo a ação de peptidases. Com isso, ocorre uma proteção das proteínas das folhas de *D. pernambucanus* em detrimento da degradação no rúmen, o que ocasionará maior fluxo de aminoácidos a serem absorvidos no intestino, além de redução da emissão de metano de origem ruminal, efeito de maior impacto na atualidade envolvendo o complexo tanino-proteína em relação aos aspectos ambientais.

De acordo com investigações de redução de emissão de gás metano (CH_4) pelos ruminantes, descritas por Ramirez-Restrepo et al. (2010a), pode-se considerar os valores de tanino encontrados nas plantas de *D. pernambucanus* aliados ao efeito redutivo desse gás, que podem agir de forma indireta através da ligação a fibras dietéticas e/ou reduzindo a digestão no rúmen e digestibilidade aparente da fibra, e diretamente inibindo o crescimento de bactérias metanogênicas no rúmen (Ramirez-Restrepo et al., 2010a).

Dessa forma, a presença de PPP dessas plantas, a menor intervalo de corte (75 dias), deve ser vista como efeito benéfico, uma vez que, normalmente, as leguminosas possuem alta proporção de proteínas que estão sujeitas à maior degradação (Diniz, 2016) e perdas no rúmen, na forma de amônia. Ao passo que, nas gramíneas, a degradação ocorre naturalmente, de forma lenta (Oliveira e Berchielli, 2007). Além disso, a presença de PPP irá equilibrar a liberação de nitrogênio para o ambiente, através dos dejetos (urina e fezes), possibilitando maximizar o uso desses dejetos para manutenção da fertilidade do solo em pastagens e cultivares por períodos mais prolongados, minimizando uma possível rapidez na liberação de nutrientes em menor intervalo de corte (75 dias) pela menor relação C:N (10,84) (Tabela 4). Dessa forma, a rápida liberação de nutrientes para produção de energia dos microrganismos, no momento da mineralização da matéria orgânica da espécie *D. pernambucanus*, em intervalos de corte de 75 dias, será contida devido à presença de PPP. Outro efeito benéfico da presença de PPP em *D. pernambucanus* é a possível redução da população de parasitas internos em ruminantes (Min et al., 2003), agindo diretamente na estimulação do sistema imune.

Os valores de PPP encontrados no presente estudo são próximos aos relatados por Cooper et al. (2014), no período de vegetação (95,2 g kg⁻¹), florescimento (119,7 g kg⁻¹) e frutificação (62,4 g kg⁻¹) em plantas de *D. paniculatum* sem desfolhamento, assim como em plantas que sofreram desfolhamento com médias de 93,47 g kg⁻¹ (vegetativo), 93,45 g kg⁻¹ (florescimento) e 32,47 g kg⁻¹ (frutificação).

Observou-se que o acesso AusTR apresentou maior PB (233,91 g kg⁻¹) com menor valor de PPP (36,85 g kg⁻¹) em relação ao acesso 7G (69,50 g kg⁻¹), não diferindo do acesso 6G (50,93 g kg⁻¹). O que significa dizer que o acesso AusTR, apesar de apresentar maior MS no menor intervalo de corte (75 dias), apresenta maior PB com concentrações prontamente digestíveis no rúmen aos animais por apresentar menor PPP, para a fração

folha. Além disso, observa-se que a relação C:N desse acesso (Tabela 8), foi menor, (11,05), que os acessos 6G (12,37) e 7G (12,48), indicando maior rapidez na liberação de nitrogênio na decomposição da fração folha do acesso AusTR em relação aos acessos 6G e 7G.

Na fração caule, houve interação significativa entre acessos vs. intervalo de corte, para MS, MM, PB e relação C:N (Tabela 6). O acesso 7G, na fração caule, apresentou maior MS nos intervalos de corte de 75 dias (468,69 g kg⁻¹) e 120 dias (537,74 g kg⁻¹). O acesso AusTR não apresentou diferença de MS entre os intervalos de corte de 75 dias (470,70 g kg⁻¹) e 120 dias (471,39 g kg⁻¹).

Tabela 6. Matéria seca (MS), proteína bruta (PB), relação carbono:nitrogênio (C:N) da fração caule das plantas de *D. pernambucanus* submetidas a dois intervalos de corte.

Acessos	Intervalo de corte		Nível de P
	75 dias	120 dias	
MS (g kg ⁻¹)			
6G	426,54 B	556,45 A	0,0022
7G	468,69 A	537,74 A	0,0483
AusTR	470,70 A	471,39 B	1,0000
Desvio padrão	12,17		
Coeficiente de variação (%)	4,98		
PB (g kg ⁻¹)			
6G	91,42 B	68,14 B	0,0128
7G	78,48 B	92,18 A	0,2857
AusTR	106,03 A	88,01 A	0,0624
Desvio padrão	4,65		
Coeficiente de variação (%)	14,94		
Relação C:N			
6G	27,87 B	39,03 A	0,0035
7G	33,88 A	29,52 B	0,5090
AusTR	24,19 B	30,12 B	0,1629
Desvio padrão	1,80		
Coeficiente de variação (%)	16,55		

Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si (P<0,05) pelo teste de Tukey. Médias significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F diferem entre intervalos de corte.

Foram encontradas maiores valores de PB no acesso AusTR no intervalo de 75 dias (106,03 g kg⁻¹), não diferindo do valor médio de PB no intervalo de 120 dias (88,01 g kg⁻¹). O acesso 6G apresentou menor valor de PB em intervalo de 75 dias (91,42 g kg⁻¹), tendo

uma redução de 25,5% no intervalo de 120 dias (68,14 g kg⁻¹). O acesso 7G apresentou maior PB em relação ao acesso 6G em intervalo de 120 dias (92,18 g kg⁻¹). Esses valores de PB foram menores dos que os observados por Diniz (2016), que observou em campo valores de 118,75 g kg⁻¹ nos caules de *Desmanthus* spp., e Garginer e Swan (2008), encontrando valor quase que semelhante aos de Diniz (2016), em caules de *Progardes*TM com 119 g kg⁻¹.

Os acessos 7G e AusTR não apresentaram diferença entre os intervalos de corte 75 dias (33,88 e 24,19, respectivamente) e 120 dias (29,52 e 30,12, respectivamente) na relação C:N (Tabela 6), tendo o acesso 6G apresentado acréscimo quando as plantas são submetidas a intervalos de 120 dias (39,03) na ordem de 40% em relação ao intervalo de 75 dias (27,87). Com isso, os acessos 7G e AusTR podem apresentar uma rápida liberação de nutrientes de seus caules tanto no intervalo de corte de 75 e 120 dias.

Foi observado, na fração folha, efeito da interação acesso vs. intervalo de corte para o DIVMS (Tabela 7). Os acessos 6G e AusTR apresentaram maiores valores de DIVMS no intervalo de 75 dias (651,67 e 666,71 g kg⁻¹, respectivamente), diferentemente do acesso 7G que apresentou maior DIVMS intervalo de 120 dias (617,11 g kg⁻¹). O intervalo de corte de 120 dias, ocasionou uma redução na DIVMS dos acessos 6G e AusTR (586,09 e 580,75 g kg⁻¹, respectivamente).

Tabela 7. Desaparecimento *in vitro* da matéria seca das folhas de acessos de *Desmanthus pernambucanus* (L.) Thell, submetidos a dois intervalos de corte.

Acessos	Intervalo de corte		Nível de P*
	75 dias	120 dias	
	Folha (g kg ⁻¹)		
6G	651,67 B	586,09 B	<0,0001
7G	614,32 C	617,11 A	0,9435
AusTR	666,71 A	580,75 B	<0,0001
Desvio padrão	2,73		
Coeficiente de variação (%)	0,88		

Médias seguidas de letras maiúsculas, distintas na coluna, diferem entre si (P<0,05) pelo teste de Tukey. Médias significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F diferem entre intervalos de corte.

O intervalo de 120 dias ocasionou diminuição de DIVMS, na fração folha, para os acessos 6G e AusTR que apresentaram DIVMS de 651,67 e 666,71 g kg⁻¹, respectivamente, aos 75 dias de intervalo de corte, passando a apresentar redução de 10% e 13%, respectivamente, no intervalo de corte de 120 dias (586,09 e 580,75 g kg⁻¹, respectivamente). Esses valores estão relacionados ao material de melhor qualidade em intervalos menores de corte, já que, maior proporção de folhas maduras, ocasiona aumento da proporção de lignina, celulose, hemicelulose e outras frações indigestíveis, que resultam na diminuição da digestibilidade do material. O acesso 7G não apresentou diferença significativa entre os intervalos de corte estudados, mantendo sua DIVMS, que foi maior no intervalo de 120 dias (617,11 g kg⁻¹) do que os demais acessos e menor aos 75 dias de intervalo de corte (614,32 g kg⁻¹).

A menor precipitação nos três meses antecedentes à avaliação de intervalo de corte de 120 dias interferiu na DIVMS dos acessos 6G e AusTR, comprometeu os valores de PB e relação C:N, aumentando a quantidade de MS e PPP na fração folha. Diferentemente da fração folha, observamos efeito isolado de acessos e intervalos de corte para a fração caule. A DIVMS do caule também apresentou uma queda em intervalo de 120 dias (370,56 g kg⁻¹), na ordem de 7% menor do que em intervalo de 75 dias (398,93 g kg⁻¹). O acesso 7G apresentou maior DIVMS de 409,55 g kg⁻¹, do que os acessos 6G (366,26 g kg⁻¹) e AusTR (378,42 g kg⁻¹).

Os valores de DIVMS encontrados foram maiores dos que os estudos de Diniz (2016), que, trabalhando com acessos de *Desmanthus* spp. no mesmo campo experimental, encontrou valores médios de 446,07 g kg⁻¹ na fração folha e de 327,10 g kg⁻¹ na fração caule. Tal diferença pode ser associada ao aspecto do referido autor ter trabalhado com outros acessos, bem como a diferença de metodologia de análise, considerando que a metodologia utilizada no presente trabalho foi por meio da lavagem da amostra com

detergente neutro (Van Soest et al., 1991), em vez de uma solução de pepsina, como trabalhada por Diniz (2016).

Conclusões

Intervalos de 75 dias entre cortes para plantas da espécie *D. pernambucanus* são mais indicados em relação a intervalos de corte de 120 dias. O menor intervalo de corte, de 75 dias, permite melhor desempenho nutricional e maior taxa de crescimento das plantas.

A ocorrência da presença de tanino condensado complexado às proteínas, indicada em intervalos de corte de 75 dias, proporciona maior fluxo de aminoácidos a serem absorvidos no intestino, possível redução da emissão de metano de origem ruminal e provável equilíbrio na liberação de nitrogênio para o ambiente, através dos dejetos (urina e fezes).

O acesso AusTR apresenta as maiores taxas de crescimento e melhor desempenho qualitativo.

Agradecimentos

Ao laboratório Texas A&M AgriLife Research Bromotological Laboratory, Stephenville Texas USA. Ao CNPq, FACEPE e CAPES, pelo suporte financeiro à esta pesquisa.

Referências Bibliográficas

- ARAÚJO, E.R.; SILVA, T.O.; MENEZES, R.S.C.; FRAGA, V.S.; SAMPAIO, E.V.S.B. Biomassa e nutrição mineral de forrageiras cultivadas em solos de semiárido adubados com esterco. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, n.9, p.890-895, 2011.
- BRANDON, N.J.; DATE, R.A.; CLEM, R.L.; ROBERTSON, B.A.; GRAHAM, T.W.G. Growth responses of *Desmanthus virgatus* to inoculation with *Rhizobium* strain CB3126. II. A field trial at 4 sites in south-east Queensland. **Tropical Grasslands**, v.32, p.20-27, 1998.
- CANTO, A. C.; TEIXEIRA, L. B.; ITALIANO, E. E. **Capineiras de corte para a região de Manaus, Amazonas**. Manaus: Embrapa-UEPAE, 1984. 29 p.
- CLIMATE-DATA.ORG. Disponível em: <<http://pt.climate-data.org/location/42604/>> Acesso em: 13 jan. 2016.
- COOPER, C.E.; NAUMANN, H.D.; LAMBERT, B.D.; MUIR, J.P.; KATTES, D.H. Legume protein precipitable phenolic and nutrient concentration responses to defoliation and ontogeny. **Journal of Plant Interactions**, v.9, n.1, p.468-477, 2014.
- COBLENTZ, W.K.; FRITZ, J.O.; COCHRAN, R.C.; ROONEY, W.L.; BOLSEN, K.K. Protein degradation in response to spontaneous heating in alfalfa hay by in situ and ficin methods. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.700-713, 1997.
- CRUZ, S.E.S.B.S.; BEELEN, P.M.G.; SILVA, D.S.; PEREIRA, W.E.; BEELEN, R.; BELTRÃO, E.S. Caracterização dos taninos condensados das espécies maniçoba (*Manihot pseudoglazovii*), flor de seda (*Calotropis procera*), feijão bravo (*Capparis flexuosa*, L) e jureminha (*Desmanthus virgatus*). **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.4, p.1038-1044, 2007.
- DALL'AGNOL, M.; SCHEFFER-BASSO, S.M. Utilização de recursos genéticos de leguminosas para ruminantes. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE

- BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41. 2004. Campo Grande, **Anais...**, Campo Grande: SBZ/EMBRAPA Gado de corte, 2004. 115-129p.
- DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. Métodos para análise de alimentos - INCT - **Ciência Animal**, Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. 214p.
- DINIZ, W.P.S. **Caracterização morfológica e nutricional de acessos de *Desmanthus spp.*; Carpina, Pernambuco.** 2016. (Dissertação de Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE., Recife – PE, 71p, 2016.
- DRUDI, A.; FAVORETTO, V. Influência da frequência, época e altura de corte na produção e composição química do capim Andropógon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.22, n.11, p.1287-1292, 1987.
- FIGUEIREDO, M.V.; GUIM, A., PIMENTA FILHO, E.C., SARMENTO, J.L.R., ANDRADE, M.V.M., PINTO, M.S.C., LIMA, J.A. Avaliação da composição bromatológica e digestibilidade "in vitro" do feno de *Desmanthus virgatus*. In: reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 37, Viçosa-MG, **Anais...** Viçosa: SBZ, p.29, 2000a.
- FREITAS, A.D.S.; SILVA, T.O.; MENEZES, R.S.C.; SAMPAIO, E.V.S.B.; ARAÚJO, E.R.; FRAGA, V.S. Nodulação e fixação de nitrogênio por forrageiras da caatinga cultivadas em solos do semiárido paraibano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.9, p.1856-1861, 2011.
- FRUTOS, P.; HERVÁS, G.; RAMOS, G.; GIRÁLDEZ, F.J.; MANTECÓN, A.R. Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. **Animal Feed Science and Technology**, v.92, p.215-226, 2002.
- GARDINER, C.; SWAN, S. 2008. Abandoned pasture legumes offer potential economic and environmental benefits in semiarid clay soil rangelands. **Proceedings...** of the

Australian Range-land Conference, Charters Towers, Qld, Australia. 28th September–2nd October 2008.

HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.26, p.809–812, 1978.

KIIHL, R.A.S. Choice of cultivars. In: Tropical Soybean: improvement and production. E. Kueneman (ed). FAO - Plant Production and Protection Series, No. 27. Rome, Italy. N.27, p.11-113, 1994.

LEINMÜLLER, E.; STEINGASS, H.; MENKE, K. Tannin in ruminant feedstuffs. **Animal Research and Development**, v.33, p.9-62, 1991.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; Van SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, n.4, p.347-358, 1996.

LUCKOW, M. (1993). Monograph of *Desmanthus* (Leguminosae-Mimosoideae). **Systematic Botany Monographs**, v.38, 166p. The American Society of Plant Taxonomists.

MIN, B.R.; BARRY, T.N.; ATTWOOD, G.T.; McNABB, W.C. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.106, p.3-19, 2003.

MUIR, J.P.; DUBEUX JR, J.C.B.; SANTOS, M.V.F.; MAPOSSE, I.C.; PITMAN, W.D.; BUTLER, T.J. Challenges to domesticating native forage legumes. **Tropical Grasslands – Forrajes Tropicales**, v.2, p.94-96, 2014.

NAUMANN, H.D.; HAGERMAN, A.E.; LAMBERT, B.D.; MUIR, J.P.; TEDESCHI, L.O.; KOTHMANN, M.M. Molecular weight and protein-precipitating ability of condensed tannins from warm-season perennial legumes. **Journal of Plant Interactions**, v.9, p.212–219, 2014.

- NICODEMO, M.L.F.; SOUZA, F.H.D.; PEZZOPANE, J.R.M.; MENDES, J.C.T.; THOLON, P.; SANTOS, P.M. Frequências de cortes em nove leguminosas forrageiras tropicais herbáceas cultivadas ao sol e sob plantação florestal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, n.3, p.809-818, 2015.
- QUEIROZ, I.V. **Ocorrência e germinação de sementes de *Desmanthus* sp. coletadas no semiárido pernambucano**. 2012. (Dissertação de Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE., Recife - PE. 65p. 2012.
- RAMÍREZ-RESTREPO, C.A.; BARRY, T.N.; MARRINER, A.; LÓPEZ-VILLALOBOS, N.; MCWILLIAM, E.L.; LASSEY, K.R.; CLARK, H. Effects of grazing willow fodder blocks upon methane production and blood composition in young sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.155, p.33–43, 2010a.
- RANGEL, J.H.A; GARDINER, C.P. Stimulation of wool growth by *Desmanthus* spp. as a supplement to a diet of Mitchell grass hay. **Tropical Grasslands**, v.43, p.106–111, 2009.
- OLIVEIRA, S.G.; BERCHIELLI, T.T. Potencialidades da utilização de taninos na conservação de forragens e nutrição de ruminantes - Revisão. **Archives of Veterinary Science**, v.12, n.1, p. 1-9, 2007.
- SANTOS, G.R.A.; BATISTA, A.M.V.; GUIM, A.; SANTOS, M.V.F.; SILVA, M.J.A.; PEREIRA, V.L.A. Determinação da composição botânica da dieta de ovinos em pastejo na Caatinga. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.1876-1883, 2008.
- SANTOS, H.G. dos; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C. dos; OLIVEIRA, V.A. de; OLIVEIRA, J.B. de; COELHO, M.R.; LUMBRERAS, J.F.; CUNHA, T.J.F. (Ed.). **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306p.

SUKSOMBAT, W; BUAKEEREE, K. Effect of cutting interval and cutting height on yield and chemical composition of hedge lucerne (*Desmanthus virgatus*). **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.19, n.1, p.31-34, 2006.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Journal British Grassland Society**, v.18, n.2, p.104-111, 1963.

VAN SOEST, P.J. 1994. **Nutritional ecology of the ruminant**. Comstock Publishing Associates, Ithaca, NY.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583–3597, 1991.

WOLFE, R.M.; TERRILL, T.H.; MUIR, J.P. Drying method and origin of standard affect condensed tannin (CT) concentrations in perennial herbaceous legumes using simplified butanol-HCl CT analysis. **Journal Science Food Agriculture**, v.88, p.1060-1067, 2008.

APÊNDICE

Alguns dados originais obtidos, conforme os capítulos da tese

SH	Aces	Aval	bloco	TCA	NFV	NRA	CFL	LFL
7	43F	21	1	0,50	42,00	10,00	7,35	7,00
7	43F	21	2	0,75	45,00	9,00	7,00	5,00
7	43F	21	3	1,00	8,00	6,00	7,35	6,00
7	43F	21	4	0,75	24,00	4,00	7,70	6,00
7	43F	42	1	3,00	40,00	6,00	8,50	7,20
7	43F	42	2	2,75	92,00	5,00	8,25	9,00
7	43F	42	3	2,75	24,00	4,00	8,00	6,90
7	43F	42	4	2,50	38,00	4,00	8,25	6,40
7	43F	63	1	29,00	25,00	4,00	7,20	4,20
7	43F	63	2	33,00	18,00	4,00	6,50	5,50
7	43F	63	3	33,00	24,00	4,00	5,80	5,70
7	43F	63	4	37,00	26,00	6,00	6,50	3,80
7	43F	84	1	9,00	27,00	2,00	7,20	4,20
7	43F	84	2	9,00	35,00	3,00	6,50	5,50
7	43F	84	3	9,00	32,00	4,00	5,80	5,70
7	43F	84	4	9,00	38,00	7,00	6,50	3,80
7	43F	105	1	4,00	30,00	3,00		
7	43F	105	2	5,00	48,00	4,00		
7	43F	105	3	4,50	52,00	4,00		
7	43F	105	4	4,50	58,00	7,00		
7	43F	126	1	8,00	32,00	9,00		
7	43F	126	2	6,00	30,00	5,00		
7	43F	126	3	7,00	34,00	5,00		
7	43F	126	4	7,00	43,00	5,00		
7	43F	147	1	8,50	25,00	4,00		
7	43F	147	2	9,00	34,00	2,00		
7	43F	147	3	8,50	22,00	4,00		
7	43F	147	4	8,00	16,00	2,00		
7	43F	168	1	7,50	35,00	3,00		
7	43F	168	2	10,00	36,00	4,00		
7	43F	168	3	7,50	7,00	3,00		
7	43F	168	4	5,00	16,00	3,00		
7	43F	189	1	13,00	34,00	10,00		
7	43F	189	2	12,50	40,00	5,00		
7	43F	189	3	12,00	29,00	6,00		
7	43F	189	4	12,50	18,00	3,00		
7	43F	210	1	6,00	61,00	5,00		
7	43F	210	2	6,00	47,00	5,00		
7	43F	210	3	6,00	45,00	6,00		
7	43F	210	4	6,00	14,00	4,00		
7	43F	231	1	21,00	35,00	10,00		
7	43F	231	2	19,00	53,00	8,00		

7	43F	231	3	5,00	49,00	10,00		
7	43F	231	4	3,00	18,00	3,00		
7	43F	252	1	4,50	40,00	10,00		
7	43F	252	2	5,00	70,00	8,00		
7	43F	252	3	4,00	50,00	10,00		
7	43F	252	4	4,50	22,00	3,00		
21	43F	21	1	8,00	14,00	2,00	8,25	4,50
21	43F	21	2	8,50	18,00	3,00	8,50	7,00
21	43F	21	3	8,00	16,00	6,00	8,00	4,50
21	43F	21	4	7,50	16,00	3,00	8,25	8,50
21	43F	42	1	5,00	36,00	1,00	8,80	1,80
21	43F	42	2	5,50	22,00	3,00	8,80	4,80
21	43F	42	3	5,50	42,00	4,00	8,60	6,60
21	43F	42	4	6,00	24,00	3,00	9,00	8,50
21	43F	63	1	21,00	14,00	2,00	4,00	4,40
21	43F	63	2	20,00	20,00	3,00	4,00	4,00
21	43F	63	3	21,00	26,00	4,00	4,00	6,00
21	43F	63	4	22,00	14,00	2,00	4,00	5,00
21	43F	84	1	1,00	10,00	2,00	4,00	4,40
21	43F	84	2	2,00	12,00	3,00	4,00	4,00
21	43F	84	3	1,00	13,00	3,00	4,00	6,00
21	43F	84	4	0,00	9,00	2,00	4,00	5,00
21	43F	105	1	11,00	18,00	1,00		
21	43F	105	2	11,00	7,00	2,00		
21	43F	105	3	11,00	32,00	5,00		
21	43F	105	4	11,00	18,00	2,00		
21	43F	126	1	9,00	15,00	4,00		
21	43F	126	2	10,00	9,00	1,00		
21	43F	126	3	8,00	23,00	2,00		
21	43F	126	4	9,00	15,00	3,00		
21	43F	147	1	2,00	11,00	4,00		
21	43F	147	2	5,00	12,00	3,00		
21	43F	147	3	3,50	8,00	2,00		
21	43F	147	4	3,50	13,00	1,00		
21	43F	168	1	6,50	14,00	2,00		
21	43F	168	2	7,00	12,00	2,00		
21	43F	168	3	6,00	23,00	1,00		
21	43F	168	4	6,50	7,00	2,00		
21	43F	189	1	5,50	21,00	3,00		
21	43F	189	2	6,00	12,00	3,00		
21	43F	189	3	5,50	10,00	1,00		
21	43F	189	4	5,00	14,00	2,00		
21	43F	210	1	4,00	18,00	4,00		
21	43F	210	2	4,00	14,00	3,00		
21	43F	210	3	4,00	9,00	2,00		
21	43F	210	4	4,00	7,00	4,00		

21	43F	231	1	2,00	21,00	5,00		
21	43F	231	2	2,00	20,00	2,00		
21	43F	231	3	2,00	10,00	4,00		
21	43F	231	4	2,00	15,00	3,00		
21	43F	252	1	11,00	25,00	5,00		
21	43F	252	2	6,00	29,00	2,00		
21	43F	252	3	6,00	20,00	4,00		
21	43F	252	4	1,00	18,00	3,00		
7	89F	21	1	6,50	10,00	2,00	7,17	6,00
7	89F	21	2	8,00	32,00	4,00	9,00	9,70
7	89F	21	3	6,50	6,00	1,00	6,00	4,50
7	89F	21	4	5,00	32,00	6,00	6,50	5,50
7	89F	42	1	24,25	22,00	3,00	8,00	1,80
7	89F	42	2	24,25	56,00	4,00	5,50	4,70
7	89F	42	3	25,00	5,00	3,00	7,80	1,70
7	89F	42	4	23,50	52,00	6,00	5,80	3,60
7	89F	63	1	26,00	25,00	3,00	4,70	4,20
7	89F	63	2	26,50	27,00	4,00	2,80	2,80
7	89F	63	3	26,00	20,00	3,00	3,83	4,70
7	89F	63	4	25,50	35,00	6,00	4,00	3,70
7	89F	84	1	15,00	24,00	3,00	4,70	4,20
7	89F	84	2	15,25	25,00	5,00	2,80	2,80
7	89F	84	3	15,25	16,00	3,00	3,83	4,70
7	89F	84	4	15,50	19,00	6,00	4,00	3,70
7	89F	105	1	10,00	27,00	3,00		
7	89F	105	2	6,00	24,00	5,00		
7	89F	105	3	10,00	45,00	4,00		
7	89F	105	4	14,00	47,00	6,00		
7	89F	126	1	2,00	20,00	6,00		
7	89F	126	2	2,00	27,00	2,00		
7	89F	126	3	2,00	20,00	1,00		
7	89F	126	4	2,00	23,00	1,00		
7	89F	147	1	5,00	12,00	4,00		
7	89F	147	2	5,00	29,00	2,00		
7	89F	147	3	5,00	15,00	2,00		
7	89F	147	4	5,00	16,00	2,00		
7	89F	168	1	6,50	28,00	1,00		
7	89F	168	2	6,50	22,00	3,00		
7	89F	168	3	5,00	13,00	4,00		
7	89F	168	4	8,00	19,00	3,00		
7	89F	189	1	6,50	14,00	8,00		
7	89F	189	2	6,50	21,00	6,00		
7	89F	189	3	7,00	17,00	2,00		
7	89F	189	4	6,00	15,00	5,00		
7	89F	210	1	12,00	30,00	6,00		
7	89F	210	2	13,00	25,00	4,00		

7	89F	210	3	11,00	17,00	2,00		
7	89F	210	4	12,00	14,00	4,00		
7	89F	231	1	3,50	30,00	8,00		
7	89F	231	2	2,00	32,00	4,00		
7	89F	231	3	3,50	21,00	2,00		
7	89F	231	4	5,00	18,00	5,00		
7	89F	252	1	10,50	53,00	8,00		
7	89F	252	2	10,50	16,00	4,00		
7	89F	252	3	9,00	18,00	2,00		
7	89F	252	4	12,00	17,00	5,00		
21	89F	21	1	5,50	3,00	1,00	7,40	5,00
21	89F	21	2	7,00	30,00	6,00	7,40	3,20
21	89F	21	3	7,00	6,00	3,00	7,50	5,30
21	89F	21	4	8,50	8,00	4,00	7,30	6,70
21	89F	42	1	7,75	9,00	3,00	6,50	6,20
21	89F	42	2	9,00	38,00	5,00	6,45	3,70
21	89F	42	3	6,50	38,00	3,00	6,40	5,20
21	89F	42	4	7,75	22,00	4,00	6,45	8,70
21	89F	63	1	25,00	11,00	5,00	3,50	4,00
21	89F	63	2	26,00	8,00	5,00	3,30	4,00
21	89F	63	3	26,00	18,00	4,00	3,40	5,50
21	89F	63	4	27,00	17,00	4,00	3,40	4,00
21	89F	84	1	2,00	24,00	4,00	3,50	4,00
21	89F	84	2	2,00	10,00	3,00	3,30	4,00
21	89F	84	3	2,00	27,00	4,00	3,40	5,50
21	89F	84	4	2,00	21,00	4,00	3,40	4,00
21	89F	105	1	11,00	34,00	5,00		
21	89F	105	2	10,50	15,00	3,00		
21	89F	105	3	10,00	34,00	4,00		
21	89F	105	4	10,50	21,00	4,00		
21	89F	126	1	4,00	30,00	5,00		
21	89F	126	2	4,00	13,00	1,00		
21	89F	126	3	4,00	24,00	4,00		
21	89F	126	4	4,00	16,00	1,00		
21	89F	147	1	3,00	16,00	4,00		
21	89F	147	2	3,50	7,00	5,00		
21	89F	147	3	4,00	17,00	4,00		
21	89F	147	4	3,50	13,00	6,00		
21	89F	168	1	5,00	34,00	6,00		
21	89F	168	2	5,00	10,00	2,00		
21	89F	168	3	9,00	19,00	5,00		
21	89F	168	4	9,00	14,00	2,00		
21	89F	189	1	7,00	37,00	5,00		
21	89F	189	2	7,00	14,00	2,00		
21	89F	189	3	7,00	15,00	4,00		
21	89F	189	4	7,00	10,00	2,00		

21	89F	210	1	11,00	34,00	4,00		
21	89F	210	2	9,00	16,00	2,00		
21	89F	210	3	7,00	42,00	3,00		
21	89F	210	4	9,00	6,00	2,00		
21	89F	231	1	5,00	35,00	2,00		
21	89F	231	2	5,00	21,00	6,00		
21	89F	231	3	5,00	15,00	3,00		
21	89F	231	4	5,00	8,00	3,00		
21	89F	252	1	12,00	54,00	2,00		
21	89F	252	2	12,00	27,00	6,00		
21	89F	252	3	12,00	18,00	3,00		
21	89F	252	4	12,00	26,00	3,00		
7	AusT	21	1	1,50	7,00	3,00	8,75	4,50
7	AusT	21	2	0,75	12,00	2,00	8,00	7,40
7	AusT	21	3	0,75	10,00	4,00	9,50	6,50
7	AusT	21	4	0,00	12,00	2,00	8,75	8,50
7	AusT	42	1	7,00	6,00	2,00	7,60	4,70
7	AusT	42	2	6,75	26,00	2,00	6,20	6,00
7	AusT	42	3	6,75	14,00	3,00	9,00	9,00
7	AusT	42	4	6,50	22,00	4,00	7,60	8,50
7	AusT	63	1	16,00	17,00	2,00	5,20	4,80
7	AusT	63	2	16,00	12,00	1,00	5,20	5,20
7	AusT	63	3	17,00	12,00	2,00	5,20	3,10
7	AusT	63	4	15,00	16,00	3,00	5,20	3,80
7	AusT	84	1	10,00	14,00	2,00	5,20	4,80
7	AusT	84	2	10,50	18,00	1,00	5,20	5,20
7	AusT	84	3	11,00	11,00	2,00	5,20	3,10
7	AusT	84	4	10,50	21,00	4,00	5,20	3,80
7	AusT	105	1	4,00	13,00	2,00		
7	AusT	105	2	6,00	18,00	1,00		
7	AusT	105	3	5,00	28,00	2,00		
7	AusT	105	4	5,00	30,00	4,00		
7	AusT	126	1	3,00	12,00	1,00		
7	AusT	126	2	3,00	15,00	2,00		
7	AusT	126	3	3,00	25,00	4,00		
7	AusT	126	4	3,00	30,00	6,00		
7	AusT	147	1	4,00	10,00	2,00		
7	AusT	147	2	4,00	7,00	1,00		
7	AusT	147	3	4,00	20,00	2,00		
7	AusT	147	4	4,00	30,00	3,00		
7	AusT	168	1	6,00	13,00	3,00		
7	AusT	168	2	6,00	12,00	3,00		
7	AusT	168	3	6,00	12,00	1,00		
7	AusT	168	4	6,00	13,00	4,00		
7	AusT	189	1	7,00	30,00	1,00		
7	AusT	189	2	7,00	4,00	3,00		

7	AusT	189	3	9,00	13,00	4,00		
7	AusT	189	4	5,00	21,00	7,00		
7	AusT	210	1	4,00	20,00	2,00		
7	AusT	210	2	4,00	18,00	3,00		
7	AusT	210	3	4,00	36,00	4,00		
7	AusT	210	4	4,00	22,00	5,00		
7	AusT	231	1	2,00	26,00	2,00		
7	AusT	231	2	2,00	16,00	2,00		
7	AusT	231	3	2,00	35,00	5,00		
7	AusT	231	4	2,00	36,00	5,00		
7	AusT	252	1	7,00	29,00	2,00		
7	AusT	252	2	7,00	23,00	2,00		
7	AusT	252	3	7,00	34,00	5,00		
7	AusT	252	4	7,00	47,00	5,00		
21	AusT	21	1	0,00	0,00	0,00	7,25	4,00
21	AusT	21	2	0,75	6,00	2,00	7,00	8,00
21	AusT	21	3	1,50	11,00	5,00	7,25	8,70
21	AusT	21	4	0,75	28,00	4,00	7,50	6,00
21	AusT	42	1	6,25	2,00	2,00	6,75	4,90
21	AusT	42	2	5,50	22,00	2,00	6,50	3,00
21	AusT	42	3	6,25	12,00	7,00	6,75	1,60
21	AusT	42	4	7,00	32,00	4,00	7,00	3,00
21	AusT	63	1	9,50	110,00	2,00	5,70	5,00
21	AusT	63	2	10,25	16,00	3,00	5,70	5,40
21	AusT	63	3	11,00	16,00	4,00	5,70	4,70
21	AusT	63	4	10,25	30,00	4,00	5,70	5,50
21	AusT	84	1	6,00	5,00	2,00	5,70	5,00
21	AusT	84	2	4,00	10,00	3,00	5,70	5,40
21	AusT	84	3	2,00	19,00	3,00	5,70	4,70
21	AusT	84	4	4,00	9,00	1,00	5,70	5,50
21	AusT	105	1	5,00	8,00	2,00		
21	AusT	105	2	6,00	18,00	3,00		
21	AusT	105	3	7,00	12,00	3,00		
21	AusT	105	4	6,00	6,00	1,00		
21	AusT	126	1	4,00	9,00	9,00		
21	AusT	126	2	4,00	20,00	5,00		
21	AusT	126	3	4,00	12,00	3,00		
21	AusT	126	4	4,00	6,00	2,00		
21	AusT	147	1	2,50	11,00	4,00		
21	AusT	147	2	3,00	20,00	4,00		
21	AusT	147	3	2,50	10,00	3,00		
21	AusT	147	4	2,00	7,00	2,00		
21	AusT	168	1	4,00	10,00	2,00		
21	AusT	168	2	4,00	25,00	5,00		
21	AusT	168	3	4,00	10,00	2,00		
21	AusT	168	4	4,00	16,00	3,00		

21	AusT	189	1	3,00	10,00	2,00
21	AusT	189	2	3,00	30,00	7,00
21	AusT	189	3	3,00	11,00	2,00
21	AusT	189	4	3,00	23,00	6,00
21	AusT	210	1	3,00	12,00	2,00
21	AusT	210	2	4,00	37,00	2,00
21	AusT	210	3	3,00	14,00	2,00
21	AusT	210	4	2,00	30,00	6,00
21	AusT	231	1	3,00	20,00	2,00
21	AusT	231	2	3,00	34,00	6,00
21	AusT	231	3	3,00	20,00	2,00
21	AusT	231	4	3,00	25,00	6,00
21	AusT	252	1	4,50	25,00	2,00
21	AusT	252	2	4,50	32,00	6,00
21	AusT	252	3	4,00	20,00	2,00
21	AusT	252	4	5,00	21,00	6,00

SH - suspensão hídrica; Aces - acessos; Aval - avaliação (tempo); bloco - delineamento em blocos casualizados; TCA - taxa de crescimento em altura (cm); NFV - número de folhas verdes; NRA - número de ramos; CFL - comprimento da folha; LFL - largura da folha.

Suspensão hídrica	Dias de avaliação	Bloco	Diâmetro do caule
7	0	1	0,10
7	0	2	0,10
7	0	3	0,10
7	0	4	0,10
7	21	1	0,10
7	21	2	0,10
7	21	3	0,10
7	21	4	0,10
7	42	1	0,20
7	42	2	0,20
7	42	3	0,20
7	42	4	0,20
7	63	1	0,20
7	63	2	0,20
7	63	3	0,20
7	63	4	0,20
7	84	1	0,30
7	84	2	0,23
7	84	3	0,30
7	84	4	0,30
7	105	1	0,30
7	105	2	0,27
7	105	3	0,30

7	105	4	0,30
7	126	1	0,33
7	126	2	0,33
7	126	3	0,33
7	126	4	0,33
7	147	1	0,40
7	147	2	0,33
7	147	3	0,37
7	147	4	0,33
7	168	1	0,40
7	168	2	0,37
7	168	3	0,37
7	168	4	0,40
7	189	1	0,43
7	189	2	0,37
7	189	3	0,43
7	189	4	0,40
7	210	1	0,50
7	210	2	0,40
7	210	3	0,43
7	210	4	0,43
7	231	1	0,50
7	231	2	0,40
7	231	3	0,50
7	231	4	0,43
7	252	1	0,53
7	252	2	0,43
7	252	3	0,53
7	252	4	0,43
21	0	1	0,10
21	0	2	0,10
21	0	3	0,10
21	0	4	0,10
21	21	1	0,10
21	21	2	0,10
21	21	3	0,10
21	21	4	0,10
21	42	1	0,10
21	42	2	0,10
21	42	3	0,10
21	42	4	0,10
21	63	1	0,20
21	63	2	0,20
21	63	3	0,20
21	63	4	0,20
21	84	1	0,20

21	84	2	0,20
21	84	3	0,20
21	84	4	0,20
21	105	1	0,20
21	105	2	0,20
21	105	3	0,20
21	105	4	0,20
21	126	1	0,20
21	126	2	0,20
21	126	3	0,20
21	126	4	0,20
21	147	1	0,23
21	147	2	0,27
21	147	3	0,20
21	147	4	0,20
21	168	1	0,27
21	168	2	0,27
21	168	3	0,27
21	168	4	0,20
21	189	1	0,27
21	189	2	0,30
21	189	3	0,27
21	189	4	0,27
21	210	1	0,27
21	210	2	0,30
21	210	3	0,27
21	210	4	0,30
21	231	1	0,27
21	231	2	0,30
21	231	3	0,30
21	231	4	0,30
21	252	1	0,33
21	252	2	0,37
21	252	3	0,33
21	252	4	0,33

Suspensão hídrica	Acesso	Bloco	Clorofila a (mg g ⁻¹)	Clorofila b (mg g ⁻¹)	Clorofila total (mg g ⁻¹)	Índice SPAD	Carboidrato Folha (g kg ⁻¹)	Carboidrato Caule (g kg ⁻¹)	Carboidrato Raiz (g kg ⁻¹)	Produção Folha (g planta ⁻¹)	Produção Caule (g planta ⁻¹)
7	43F	1	0,14	0,08	0,23	16,76	25,42	12,27	11,21	3,29	4,64
7	43F	2	0,15	0,09	0,21	16,70	25,42	12,27	11,42	3,23	4,74
7	43F	3	0,16	0,08	0,22	16,76	25,42	12,18	11,21	3,34	4,55
7	43F	4	0,15	0,08	0,22	16,83	25,42	12,35	11,00	3,29	4,64
7	89F	1	0,20	0,17	0,37	18,73	21,90	9,74	13,81	3,97	3,41
7	89F	2	0,19	0,17	0,36	18,37	21,90	9,74	13,80	3,89	3,48
7	89F	3	0,20	0,17	0,37	18,55	22,03	10,26	13,79	3,82	3,48
7	89F	4	0,21	0,17	0,37	18,55	21,76	9,23	13,80	3,89	3,55
7	AusT	1	0,13	0,08	0,21	14,65	22,10	14,44	13,29	3,33	1,25
7	AusT	2	0,06	0,08	0,23	15,25	22,10	11,94	13,29	3,38	1,08
7	AusT	3	0,16	0,09	0,25	15,85	21,79	14,81	13,69	3,43	1,25
7	AusT	4	0,12	0,08	0,23	15,25	22,41	12,04	12,88	3,38	1,42
21	43F	1	0,12	0,08	0,21	11,60	32,36	13,39	10,00	2,00	2,48
21	43F	2	0,14	0,09	0,23	11,60	32,62	13,39	10,00	1,86	1,45
21	43F	3	0,15	0,09	0,24	11,33	32,88	13,69	10,00	1,71	2,62
21	43F	4	0,14	0,09	0,23	11,88	32,62	13,09	10,00	1,86	1,31
21	89F	1	0,18	0,11	0,26	11,13	33,07	12,26	10,75	0,82	1,20
21	89F	2	0,18	0,11	0,25	11,71	33,20	12,26	10,63	0,82	1,19
21	89F	3	0,17	0,10	0,27	11,71	32,94	12,26	10,75	0,82	1,20
21	89F	4	0,18	0,12	0,26	12,30	33,07	12,26	10,87	0,82	1,21
21	AusT	1	0,25	0,10	0,37	12,30	13,64	11,99	12,73	1,16	1,42
21	AusT	2	0,25	0,10	0,36	11,99	14,47	11,43	12,51	1,16	1,42
21	AusT	3	0,25	0,10	0,36	11,67	13,64	12,55	12,51	1,16	1,34

Queiroz, I.V. *Variabilidade genética e caracterização morfológica, produtiva e qualitativa de acessos de Desmanthus spp.*

21	AusT	4	0,25	0,10	0,36	11,99	12,80	11,99	12,29	1,16	1,50
----	------	---	------	------	------	-------	-------	-------	-------	------	------

Fração da planta	Suspensão hídrica	Acesso	Bloco	Matéria seca (g kg ⁻¹)	Matéria mineral (g kg ⁻¹)	Nitrogênio (g kg ⁻¹)	Proteína bruta (g kg ⁻¹)	Carbono (g kg ⁻¹)	Relação carbono:nitrogenio
Folha	7	43F	1	182,17	89,98	33,47	209,16	373,71	11,17
Folha	7	43F	2	182,17	89,90	36,68	229,23	373,71	10,19
Folha	7	43F	3	196,45	89,98	33,34	208,40	373,64	11,21
Folha	7	43F	4	167,90	90,05	37,11	231,92	373,78	10,07
Folha	7	89F	1	251,32	79,81	36,00	225,00	385,47	10,71
Folha	7	89F	2	248,05	79,48	35,80	223,73	385,56	10,77
Folha	7	89F	3	249,68	79,65	36,00	225,00	385,47	10,71
Folha	7	89F	4	249,68	79,65	36,20	226,26	385,37	10,65
Folha	7	AusT	1	211,70	86,66	35,61	222,56	388,65	10,91
Folha	7	AusT	2	207,27	86,66	35,61	222,56	388,19	10,90
Folha	7	AusT	3	216,13	86,74	35,61	222,54	387,74	10,89
Folha	7	AusT	4	211,70	86,58	35,61	222,58	388,19	10,90
Folha	21	43F	1	225,96	92,30	30,92	193,24	380,28	12,30
Folha	21	43F	2	228,12	92,30	30,95	193,42	376,97	12,18
Folha	21	43F	3	223,80	92,30	30,98	193,59	378,62	12,22
Folha	21	43F	4	225,96	92,30	30,95	193,42	378,62	12,23
Folha	21	89F	1	274,18	78,46	33,89	211,79	379,93	11,21
Folha	21	89F	2	294,41	78,46	33,89	211,79	379,93	11,21
Folha	21	89F	3	284,29	77,96	33,89	211,79	379,93	11,21
Folha	21	89F	4	284,29	78,96	33,89	211,79	379,93	11,21
Folha	21	AusT	1	342,38	99,03	36,74	229,60	390,52	10,63
Folha	21	AusT	2	329,18	99,94	36,65	229,03	390,52	10,66
Folha	21	AusT	3	342,38	100,86	36,55	228,47	390,68	10,69

Folha	21	AusT	4	355,59	99,94	36,65	229,03	390,35	10,65
Caule	7	43F	1	500,36	32,06	11,68	73,03	406,49	34,79
Caule	7	43F	2	504,73	30,57	11,34	70,85	405,63	35,78
Caule	7	43F	3	500,36	32,06	10,99	68,68	407,36	37,07
Caule	7	43F	4	495,99	33,56	11,34	70,85	406,49	35,86
Caule	7	89F	1	481,84	34,53	9,70	60,61	401,57	41,41
Caule	7	89F	2	483,46	32,43	7,63	47,69	402,62	52,76
Caule	7	89F	3	485,07	34,53	8,66	54,15	402,62	46,47
Caule	7	89F	4	483,46	36,64	8,66	54,15	403,67	46,59
Caule	7	AusT	1	513,41	27,33	10,79	67,44	401,18	37,18
Caule	7	AusT	2	513,41	27,39	10,80	67,49	401,16	37,15
Caule	7	AusT	3	517,46	27,46	10,81	67,55	401,19	37,12
Caule	7	AusT	4	509,35	27,39	10,80	67,49	401,18	37,15
Caule	21	43F	1	476,64	27,56	12,39	77,46	405,59	32,72
Caule	21	43F	2	477,13	27,89	12,64	79,00	402,37	31,83
Caule	21	43F	3	476,15	28,22	12,15	75,93	403,98	33,25
Caule	21	43F	4	476,64	27,89	12,39	77,46	403,98	32,59
Caule	21	89F	1	493,49	26,37	12,91	80,68	398,91	30,90
Caule	21	89F	2	489,15	26,37	12,91	80,68	399,90	30,98
Caule	21	89F	3	489,15	26,37	12,92	80,77	398,91	30,87
Caule	21	89F	4	484,81	26,37	12,90	80,59	397,91	30,86
Caule	21	AusT	1	443,32	23,70	13,73	85,80	398,42	29,02
Caule	21	AusT	2	443,32	29,40	13,97	87,29	397,46	28,46
Caule	21	AusT	3	424,12	29,40	13,85	86,54	398,42	28,77

Queiroz, I.V. *Variabilidade genética e caracterização morfológica, produtiva e qualitativa de acessos de Desmanthus spp.*

Caule	21	AusT	4	462,52	35,10	13,85	86,54	399,38	28,84
-------	----	------	---	--------	-------	-------	-------	--------	-------

Fração da planta	Intervalo de corte	Acesso	Repetição	Matéria seca (g kg ⁻¹)	Matéria mineral (g kg ⁻¹)	Desaparecimento in vitro da matéria seca (g kg ⁻¹)	Proteína bruta (g kg ⁻¹)	Nitrogênio (g kg ⁻¹)	Carbono (g kg ⁻¹)	Relação carbono:nitrogenio
Folha	75	6G	1	328,24	70,89	651,67	240,82	38,53	400,11	10,38
Folha	75	6G	2	330,14	75,33	637,20	237,93	38,07	400,75	10,53
Folha	75	6G	3	334,60	75,33	651,67	215,80	34,53	412,08	11,93
Folha	75	6G	4	327,59	79,76	666,13	208,02	33,28	397,53	11,94
Folha	75	7G	1	339,28	51,29	614,32	236,36	37,82	401,89	10,63
Folha	75	7G	2	332,23	64,18	614,32	247,71	39,63	407,46	10,28
Folha	75	7G	3	339,28	57,73	614,64	208,12	33,30	409,28	12,29
Folha	75	7G	4	346,34	57,73	614,00	208,66	33,39	413,28	12,38
Folha	75	AusTR	1	359,52	72,97	666,71	238,15	38,10	397,83	10,44
Folha	75	AusTR	2	359,52	72,97	665,75	250,85	40,14	403,38	10,05
Folha	75	AusTR	3	359,52	72,97	667,67	234,54	37,53	409,88	10,92
Folha	75	AusTR	4	359,52	72,97	666,71	236,28	37,80	408,42	10,80
Folha	120	6G	1	448,15	65,42	591,08	185,88	29,74	412,64	13,87
Folha	120	6G	2	465,60	65,94	581,11	191,47	30,64	414,04	13,51
Folha	120	6G	3	483,05	68,21	586,09	172,27	27,56	417,60	15,15
Folha	120	6G	4	465,60	62,10	586,09	175,33	28,05	425,73	15,18
Folha	120	7G	1	525,57	66,93	617,21	168,45	26,95	424,53	15,75
Folha	120	7G	2	368,39	59,34	617,02	168,30	26,93	426,27	15,83
Folha	120	7G	3	446,78	64,66	617,11	230,43	36,87	402,92	10,93
Folha	120	7G	4	446,38	67,72	617,11	233,47	37,35	404,82	10,84
Folha	120	AusTR	1	503,27	62,56	586,43	205,87	32,94	411,93	12,51
Folha	120	AusTR	2	542,23	62,06	575,06	208,24	33,32	412,13	12,37

Folha	120	AusTR	3	542,23	62,56	580,75	227,92	36,47	409,28	11,22
Folha	120	AusTR	4	581,18	63,06	580,75	228,71	36,59	411,77	11,25
Caule	75	6G	1	415,56	41,39	390,15	80,82	12,93	390,22	30,18
Caule	75	6G	2	426,54	46,45	390,15	80,29	12,85	395,33	30,77
Caule	75	6G	3	437,53	50,42	387,5	82,14	13,14	401,74	30,57
Caule	75	6G	4	426,54	47,54	392,8	86,67	13,87	407,10	29,36
Caule	75	7G	1	468,69	56,76	414,45	65,05	10,41	414,55	39,83
Caule	75	7G	2	468,69	48,99	414,45	77,65	12,42	409,33	32,95
Caule	75	7G	3	468,69	41,23	414,31	61,68	9,87	402,54	40,79
Caule	75	7G	4	468,69	48,99	414,58	66,27	10,6	402,93	38,00
Caule	75	AusTR	1	470,70	70,14	399,33	88,62	14,18	405,44	28,60
Caule	75	AusTR	2	454,82	74,34	385,03	95,47	15,27	414,04	27,11
Caule	75	AusTR	3	470,70	65,95	392,18	108,29	17,33	394,43	22,76
Caule	75	AusTR	4	486,58	70,14	392,18	113,89	18,22	396,78	21,77
Caule	120	6G	1	556,45	28,88	342,37	85,9	13,74	403,93	29,39
Caule	120	6G	2	582,75	29,21	342,37	88,45	14,15	404,53	28,59
Caule	120	6G	3	549,94	28,55	350,45	59,68	9,55	413,87	43,35
Caule	120	6G	4	536,66	28,88	334,28	63,59	10,17	414,15	40,70
Caule	120	7G	1	577,58	29,77	404,66	84,29	13,49	411,05	30,48
Caule	120	7G	2	483,80	21,11	404,66	82,79	13,25	411,96	31,10
Caule	120	7G	3	537,74	30,46	412,88	65,76	10,52	418,69	39,80
Caule	120	7G	4	551,84	27,11	396,44	68,84	11,01	421,60	38,28
Caule	120	AusTR	1	471,39	28,70	321,64	87,54	14,01	426,49	30,45
Caule	120	AusTR	2	516,62	23,29	329,85	94,24	15,08	425,03	28,19
Caule	120	AusTR	3	471,39	29,14	402,12	69,19	11,07	426,03	38,48
Caule	120	AusTR	4	426,16	27,04	405,06	81,49	13,04	425,10	32,60

Intervalo corte	Acesso	Repetição	Proteína complexada ao tanino (mg g ⁻¹)
75	6G	1	61,94
75	6G	2	62,28
75	6G	3	52,17
75	6G	4	59,88
75	7G	4	23,00
75	7G	5	25,80
75	7G	6	26,66
75	7G	7	25,15
75	AusTR	1	10,23
75	AusTR	2	9,01
75	AusTR	3	7,79
75	AusTR	4	9,01
120	6G	1	48,76
120	6G	2	51,65
120	6G	3	48,66
120	6G	4	50,58
120	7G	1	115,43
120	7G	2	111,45
120	7G	3	110,22
120	7G	4	95,99
120	AusTR	1	43,15
120	AusTR	2	42,46
120	AusTR	3	42,79
120	AusTR	4	42,90