



**ADUBAÇÃO NITROGENADA E CONSÓRCIO (*Brachiaria decumbens* X *Stylosanthes* cv. CAMPO GRANDE): INFLUÊNCIA SOBRE A ATIVIDADE DE INVERTASES**

**Abdias José de Figueiredo**

**2015**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**ADUBAÇÃO NITROGENADA E CONSÓRCIO (*Brachiaria  
decumbens* X *Stylosanthes* cv. CAMPO GRANDE):  
INFLUÊNCIA SOBRE A ATIVIDADE DE INVERTASES**

Autor: Abdias José de Figueiredo

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. D.Sc. Daniela Deitos Fries

ITAPETINGA  
BAHIA – BRASIL  
MARÇO 2015

**ABDIAS JOSÉ DE FIGUEIREDO**

**ADUBAÇÃO NITROGENADA E CONSÓRCIO (*Brachiaria decumbens* X *Stylosanthes* cv. CAMPO GRANDE):  
INFLUÊNCIA SOBRE A ATIVIDADE DE INVERTASES**

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. D.Sc. Daniela Deitos Fries

Coorientadores: Prof. D.Sc. Paulo Bonomo

ITAPETINGA  
BAHIA – BRASIL  
Março de 2015

633.2 Figueiredo, Abdias José de.  
F488a “Adubação nitrogenada e consórcio (*Brachiaria decumbens* x *Stylosanthes* cv. Campo grande): influência sobre a atividade de invertases”. / Abdias José de Figueiredo. – Itapetinga-BA: UESB, 2015. 74p.

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação da Profª. D. Sc. Daniela Deitos Fries e co-orientador Prof. D. Sc. Paulo Bonomo.

1. Adubação nitrogenada - Consórcio. 2. *Brachiaria decumbens* x *Stylosanthes* – Invertase - Metabolismo. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Campus de Itapetinga. II. Fries, Daniela Deitos. III. Bonomo, Paulo. IV. Título.

**CDD(21): 633.2**

Catálogo na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região  
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Adubação nitrogenada - Consórcio
2. *Brachiaria decumbens* x *Stylosanthes* – Invertase - Metabolismo

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**  
Área de Concentração: Produção de Ruminantes

**DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO**

**Título:** ADUBAÇÃO NITROGENADA E CONSÓRCIO (*Brachiaria decumbens* X *Stylosanthes* cv. CAMPO GRANDE): INFLUÊNCIA SOBRE A ATIVIDADE DE INVERTASES

**Autor (a):** Abdias José de Figueiredo

**Orientador (a):** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daniela Deitos Fries

**Coorientador (a):** Prof. Dr. Paulo Bonomo

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM ZOOTECNIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO DE RUMINANTES, pela Banca Examinadora:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daniela Deitos Fries – UESB  
Orientadora

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Janaína Silva de Freitas – UESB

---

Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Gomes da Silva – UESB

Data de realização: 06 de março de 2015.

*Durante este trabalho...*

*As dificuldades não foram poucas...*

*Os desafios foram muitos...*

*Os obstáculos, muitas vezes, pareciam intransponíveis.*

*O desânimo quis contagiar, porém, a garra e a tenacidade foram mais fortes, sobrepondo esse sentimento, fazendo-me seguir a caminhada, apesar da sinuosidade do caminho.*

*Agora, ao olhar para trás, a sensação do dever cumprido se faz presente e posso constatar que as noites de sono perdidas, o cansaço do trabalho, os longos tempos de leitura, digitação, discussão; a ansiedade em querer fazer e a angústia de, muitas vezes, não o conseguir, por problemas estruturais; não foram em vão.*

*Aqui estou, como sobrevivente de uma longa batalha, porém, muito mais forte e hábil, com coragem suficiente para mudar a nossa postura, apesar dos percalços.*

**(Ana Paula Gonçalves)**

*Tudo o que um sonho precisa para  
Ser realizado é alguém que acredite  
Que ele possa ser realizado*

*“Que não se tenha pressa, mas que não se perca tempo”.*

**(Roberto Shinyashiki)**

*A Deus, pelo dom da vida;*

*Ao meu pai e minha mãe (in memoriam);*

*Às minhas irmãs;*

*Aos meus cunhados;*

*Aos meus Sobrinhos;*

*À minha orientadora;*

*E a toda a minha família e amigos,*

**DEDICO!**

## AGRADECIMENTOS

*A Deus, pelo dom da vida;*

*Aos meus pais, **José Abdias de Figueiredo e Francisca Otília de Figueiredo** (In memoriam), pelo seu amor e carinho incondicional e com suas orações incansáveis pelos filhos e netos, e na certeza de que uma luz forte sempre me guiou pelos melhores caminhos;*

*Às minhas “irmãs” **Josa, Lêda, Kêu e Tila**, por mais que a distância nos separe, estaremos sempre ligados pelo coração, “De todo o amor que eu tenho, metade foi tu que me deu”; vocês são as melhores do mundo, foram mães, amigas, sofreram e vibraram comigo a cada conquista e não mediram esforços para a realização dos meus sonhos, por estarem sempre ao meu lado, por terem aceitado minhas necessidades de ausência, mesmo com muitas saudades, essa vitória é nossa!*

*Aos meus cunhados, **Fábio, James, Diaulas e Diogo**, que entraram na família e somaram, e também não mediram esforços para esta conquista;*

*Aos meus Sobrinhos: **Bruna, Arthur, Guilherme, Júlia, João Pedro e Otávio**, que sempre me receberam de braços abertos a cada volta pra casa. Amo vocês incondicionalmente;*

*A todos os meus familiares, por sempre torcerem por mim: tios, tias, primos e primas;*

*À **Carla Taciane** (Carlinha) e **Endiara**, que sempre estiveram presentes, mesmo que distantes;*

*À UESB e ao **Programa de Pós-graduação em Zootecnia (PPZ)**, por conceder toda a estrutura para realização deste trabalho;*

*Aos funcionários da **UESB** e às secretárias do **PPZ**;*

*À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos;*

*À professora **Daniela Deitos Fries**, pela orientação durante esses anos, paciência, carinho, oportunidade de crescimento, ensinamentos, amizade e pela grande pessoa que é. Obrigada **Dani**, por sempre acreditar que eu seria capaz;*

*Aos professores do Programa, pela amizade e pelos conhecimentos transmitidos;*

*Aos amigos que foram fundamentais na realização da pesquisa, eu tenho um enorme carinho por vocês: **Daniel, Renata, Camila, Ângela**, por sempre me ajudarem quando*

*mais precisei na realização das análises, pelas boas risadas; a colaboração de vocês foi muito significativa. Serei eternamente grato pelo companheirismo;*

*À **Rita**, pela montagem e ajuda na condução do experimento, bem como nas análises estatísticas. O meu muito obrigado;*

*A todos os amigos do LAFIEP: **Roseane, Rita, Cristóvão, Adriane Pereira, Leiliane, Bianca, Jamille, Sandro, Alessandro, Raissa, Geovane, Dantas** e a todos os que estão chegando, sem exceção, muito obrigada pelos momentos de descontração, trabalho e amizade;*

*À banca, composta pela Professora: **Dra. Janaína Silva de Freitas** e a **Dra. Ana Paula Gomes da Silva**, que acrescentou bastante com sugestões para a dissertação;*

*Aos professores e amigos: **Sibelli Passini** e **Sérgio Fernandes**, obrigado por cada incentivo e cada ensinamento, desde a iniciação científica, e a todos do grupo GEL, principalmente aos queridos amigos: **Ben-Hur** e **Grazy**, pelas boas risadas;*

*Aos grandes amigos: **Dan, Camila, Ângela, Renata, Rodrigo, Leile, Maíra, Jamille, Cleide, Renara, João, Flor, Natalí, Taiane, Kauana, Wendel**;*

*A estes que são mais que amigos: **Marão, Marcola, Jovita** e a toda **família de vocês** que sempre me acolheram como parte da família; foram oito anos de irmandade, sempre próximos, e que me deram o apoio fundamental para a realização deste sonho;*

*Às pessoas que me ajudaram com sua amizade, de forma direta ou indiretamente, durante todo esse período: **George, Zé** (laboratório de forragem), **Jeruzia, Rita Kelly, Milena, Andrezza, Sinvaldo, Gonçalo, Dani, Eli, Bela, Gedas** e a todos os funcionários da UESB, que sempre ajudaram com a maior boa vontade;*

*A todos os amigos e vizinhos de **Barreiras** e amigos de **Itapetinga** e a todas as pessoas que já passaram pela minha vida, não teria graça se tivesse sido diferente;*

*A todos vocês, de todo coração...*

**AGRADEÇO!**

## BIOGRAFIA

*Abdias José de Figueiredo, filho de José Abdias de Figueiredo e Francisca Otília de Figueiredo (in memorian), nasceu na cidade de Irecê, Bahia, no dia 21 de dezembro 1983.*

*Em fevereiro de 2007, iniciou o curso de Zootecnia na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, finalizando o mesmo em agosto de 2012.*

*Em novembro de 2012, foi aprovado na seleção de mestrado do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB.*

*Em março de 2013, iniciou o curso de Pós-Graduação em Zootecnia – Mestrado em Zootecnia, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, sob a orientação da Professora Daniela Deitos Fries, realizando estudos na área de Pastagem.*

*Em novembro de 2014, foi aprovado na seleção de doutorado do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB.*

*Em 06 de março de 2015, defendeu a presente Dissertação.*

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS.....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
I – REFERENCIAL TEÓRICO	
1.1.    Introdução.....	01
1.2.    Degradação de Pastagem.....	02
1.3. <i>Stylosanthes</i> Campo Grande.....	03
1.4. <i>Brachiaria decumbens</i> .....	04
1.5.    Consórcio gramínea x leguminosa.....	06
1.6.    Adubação nitrogenada.....	08
1.7.    Metabolismo de carboidratos e produção de biomassa.....	10
II – OBJETIVO GERAL.....	13
III – MATERIAL E MÉTODOS.....	
3.1.    Experimento.....	13
3.2.    Atividade Enzimática.....	15
3.2.1.    Extração e Incubação das invertases.....	15
3.2.2.    Quantificação das Invertases.....	15
3.3.    Avaliações Morfogênicas e Produção.....	16
IV – ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	17
V – RESULTADO E DISCUSSÃO.....	
5.1.    Atividade Enzimática.....	18
5.2.    Avaliação Morfogênica e produção.....	32
VI – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39
VII – REFERÊNCIAS.....	40

## LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Ilustração das duas classes enzimáticas responsáveis pela clivagem de sacarose.....	15
FIGURA 2. Precipitação (mm) e temperatura (°C) máxima, mínima e média durante o período experimental (nov/12 - mar/14).....	17
FIGURA 3. Atividade da invertase ácida da parede celular (IAP) (A e B), invertase ácida do vacúolo (IAV) (C e D) e invertase neutra do citosol (INC) (E e F) em folhas (A, C e E) e caules (B, D e F) de <i>Stylosanthes</i> cultivado solteiro ou em consórcio, na ausência (s/N) ou presença de nitrogênio (c/N), no período do outono.....	23
FIGURA 4. Invertase Total em folhas (A) e caules (B) de <i>Stylosanthes</i> cultivado solteiro ou em consórcio, na ausência (s/N) ou presença de nitrogênio (c/N), no período do outono.....	24
FIGURA 5. Açúcar redutor em folhas (A) e caules (B) de <i>Stylosanthes</i> cultivado solteiro ou em consórcio, na ausência (s/N) ou presença de nitrogênio (c/N), no período do outono.....	24
FIGURA 6. Atividade da invertase ácida da parede celular (IAP) (A e B), invertase ácida do vacúolo (IAV) (C e D) e invertase neutra do citosol (INC) (E e F) em folhas (A, C e E) e caules (B, D e F) de <i>Stylosanthes</i> Campo Grande cultivado solteiro ou em consórcio, na ausência (s/N) ou presença de nitrogênio (c/N), no período da primavera.....	27
FIGURA 7. Invertase Total em folhas (A) e caules (B) de <i>Stylosanthes</i> cultivado solteiro ou em consórcio, na ausência (s/N) ou presença de nitrogênio (c/N), no período da primavera.....	28
FIGURA 8. Açúcar redutor em folhas (A) e caules (B) de <i>Stylosanthes</i> cultivado solteiro ou em consórcio, na ausência (s/N) ou presença de nitrogênio (c/N), no período da primavera.....	28
FIGURA 9. Atividade da invertase ácida da parede celular (IAP) (A e B),	

invertase ácida do vacúolo (IAV) (C e D) e invertase neutra do citosol (INC) (E e F) em folhas (A, C e E) e caules (B, D e F) de <i>Brachiaria decumbens</i> cultivado solteiro ou em consórcio, na ausência (s/N) ou presença de nitrogênio (c/N), no período do outono.....	31
FIGURA 10. Invertase total de folhas e colmo do <i>Brachiaria decumbens</i> , no período do outono.....	33
FIGURA 11. Teores de açúcar redutor de folhas e colmos de <i>Brachiaria decumbens</i> , no período do outono.....	33
FIGURA 12. Atividade da invertase ácida da parede celular (IAP) (A e B), invertase ácida do vacúolo (IAV) (C e D) e invertase neutra do citosol (INC) (E e F) em folhas (A, C e E) e caules (B, D e F) de <i>Brachiaria decumbens</i> cultivado solteiro ou em consórcio, na ausência (s/N) ou presença de nitrogênio (c/N), no período da primavera.....	35
FIGURA 13. Invertase total de folhas e colmo do <i>Brachiaria decumbens</i> , no período da primavera.....	36
FIGURA 14. Teores de açúcar redutor de folhas e colmos de <i>Brachiaria decumbens</i> , no período da primavera.....	36

## LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Atividade enzimática, Invertase total e Açúcares redutores total de folhas e Caule do <i>Stylosanthes</i> no período do outono.....	26
TABELA 2. Atividade enzimática, Invertase total e Açúcares redutores total de folhas e Caule do <i>Stylosanthes</i> no período da primavera.....	29
TABELA 3. Atividade enzimática, Invertase total e Açúcares redutores total de folhas e Caule da <i>Brachiaria decumbens</i> no período do outono.....	33
TABELA 4. Atividade enzimática, Invertase total e Açúcares redutores total de folhas e Caule do <i>Brachiaria decumbens</i> no período da primavera.....	38
TABELA 5. Produção matéria seca total de <i>Stylosanthes</i> cv. Campo Grande e <i>Brachiaria decumbens</i> na produção dos consórcios entre as duas espécies, com ou sem adubação nitrogenada, durante as estações do ano.....	40
TABELA 6. Efeito do consórcio e adubação nitrogenada na produção do <i>Stylosanthes</i> Campo Grande, nas estações do ano.....	41
TABELA 7. Efeito do consórcio e adubação nitrogenada na produção da <i>Brachiaria decumbens</i> , nas estações do ano.....	42
TABELA 8. Efeito do consórcio e adubação nitrogenada no crescimento do <i>Stylosanthes</i> campo grande, nas estações do ano.....	45
TABELA 9. Efeito do consórcio e adubação nitrogenada no crescimento da <i>Brachiaria decumbens</i> , nas estações do ano.....	46

## LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

- AR – Açúcar Redutor  
CO<sub>2</sub> – Dióxido de Carbono  
CP – Comprimento do pecíolo  
CFF – Comprimento de folha final  
CFC – Comprimento final de caule  
DNS – Ácido Dinitrosalicílico  
EROs – Espécies Reativas de Oxigênio  
FC – Relação Folha Caule  
IAPC – Invertase Ácida da Parede Celular  
IAV – Invertase Ácida do Vacúolo  
INC – Invertase Neutra do Citosol  
LFF – Largura de folha final  
MF – Massa Fresca  
MS – Matéria Seca  
mm – Milímetros  
NaCl – Cloreto de Sódio  
N<sub>2</sub> – Nitrogênio  
NFV – Número de folhas vivas  
NRsec – Número de Ramos senescentes  
PMS<sub>total</sub> – Produção massa seca total  
PMS<sub>caule</sub> – Produção de matéria seca do caule  
PMS<sub>inflorescência</sub> – Produção de matéria seca da inflorescência  
PMS<sub>total</sub> – Produção de matéria seca total  
PMS<sub>folha</sub> – Produção de matéria seca da folha  
TA<sub>pF</sub> – Taxa de aparecimento foliar  
TA<sub>IF</sub> – Taxa de alongamento de folha  
TA<sub>IC</sub> – Taxa de alongamento de caule  
VC – Valor Cultural

## RESUMO

FIGUEIREDO, A. J. **Adubação nitrogenada e consórcio (*Brachiaria decumbens* x *Stylosanthes* cv. Campo grande): Influência sobre a atividade de invertases.** Itapetinga, BA: UESB, 2015. 74 p. Dissertação/Tese. (Mestrado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes).\*

Objetivou-se avaliar o efeito da presença de nitrogênio e do consórcio sobre a atividade de enzimas do metabolismo de carbono, as invertases, e o crescimento de plantas do *Stylosanthes* cv. Campo Grande e da *Brachiaria decumbens*. O experimento foi realizado em uma área estabelecida de *Brachiaria decumbens*, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga-BA, durante o período de abril de 2013 a fevereiro de 2014. O ensaio foi conduzido em um esquema fatorial 2 x 3, sendo duas doses de nitrogênio (0 e 50 kg/ha de N) e três arranjos de plantio (*Stylosanthes* cv. Campo Grande solteira, *Brachiaria decumbens* solteira e consórcio da *Stylosanthes* cv. Campo Grande + *Brachiaria decumbens*), disposto no delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições. Nos períodos do outono e primavera, foram avaliados, para o *Stylosanthes* campo grande e *Braquiária*, respectivamente, atividade das invertases, açúcares redutores, produção de massa seca e crescimento. A atividade da invertase ácida da parede celular (IAP) aumentou significativamente ( $P < 0,05$ ) em função da presença de nitrogênio em folhas de *Stylosanthes* em sistema de cultivo solteiro e consorciado com *Brachiaria decumbens*, assim como, em caules dessas plantas no consórcio, durante o outono. O nitrogênio não influenciou ( $P > 0,05$ ) a atividade da invertase ácida do vacúolo (IAV) em folhas e caules de *Stylosanthes* solteiro, porém, promoveu um aumento em folhas e uma redução em caules das plantas consorciadas. Já para a invertase neutra do citosol (INC), houve efeito positivo ( $P < 0,05$ ) do nitrogênio para folhas e caules de plantas solteiras e folhas de plantas consorciadas. Ao analisar o efeito do consórcio sobre as plantas estudadas, verificou-se uma redução na atividade da invertase ácida da parede celular em folhas e caules de *Stylosanthes* em função do consórcio e aumento na atividade da invertase ácida do vacúolo nas folhas. Para a produção de massa seca de folhas, caule e massa seca total nas estações de outono e primavera, houve efeito significativo ( $P < 0,05$ ) para o contraste 1. Já no período da primavera, as variáveis: produções de massa seca de folha, caule, produção de matéria seca total e relação folha/caule apresentaram efeito significativo ( $P < 0,05$ ) para o mesmo contraste. As variáveis: produção de massa seca de folha, caule, inflorescência e produção de matéria seca total apresentaram efeito significativo ( $P < 0,05$ ) no outono para o contraste 3. Já na primavera, apenas as variáveis produção de massa seca de folha, caule e matéria seca total apresentaram efeitos para esse contraste, sendo os melhores resultados registrados para o cultivo solteiro. A atividade das

enzimas estudadas não apresentou um padrão de resposta de suas atividades em função da adubação nitrogenada ou da utilização de uso do consórcio ou não. Aliado aos dados de crescimento, o estudo feito com as enzimas demonstra, de uma maneira geral, que as mesmas não têm prejuízos em função do nitrogênio ou do consórcio.

**Palavras-chave:** adubação, invertase, metabolismo.

## ABSTRACT

FIGUEIREDO, A. J. **Nitrogen fertilization and consortium (*Brachiaria decumbens* x *Stylosanthes hp* Big field.): Influence on invertase activity.** Itapetinga, BA: UESB, 2015. 74 p. Dissertation / Thesis. (Master of Animal Science, Area of Concentration in Ruminant Production). \*.

The objective was to evaluate the effect of the presence of nitrogen and the consortium on the activity of carbon metabolism enzymes, invertase, and the plant growth of *Stylosanthes* cv. Campo Grande and *Brachiaria decumbens*. The experiment was conducted in an established area of *Brachiaria decumbens*, at the State University of Southwest Bahia, Itapetinga-BA during the period April 2013 to February 2014. The trial was conducted in a factorial 2 x 3, two nitrogen levels (0 and 50 kg N / ha) and three planting arrangements (*Stylosanthes* cv. Campo Grande single, *Brachiaria decumbens* and *Stylosanthes hp* single consortium. Campo Grande + *Brachiaria decumbens*), provisions of design in casualidados blocks with four replications, During fall and spring were evaluated for Estilosantes large field and *Brachiaria*, respectively, the invertase activity, reducing sugar, dry matter production and growth. The activity of acid invertase cell wall (IAP) increased significantly ( $P < 0.05$ ) due to the presence of nitrogen in *Stylosanthes* leaves in monocrop system and intercropped with *Brachiaria decumbens* and, in stems of these plants in the consortium during the fall. Nitrogen did not affect ( $P > 0.05$ ) the activity of invertase of the vacuole (IAV) in leaves and stems Single *Stylosanthes*, but provided an increase in leaves and stems of a reduction in intercropped plants. Already, for the neutral cytosol invertase (INC) was positive effect ( $P < 0.05$ ) of nitrogen to leaves and stems of single plants and leaves of intercropped plants. To analyze the effect of the consortium on plants studied, there was a reduction in the activity of cell wall invertase leaves and stems according to the consortium *Stylosantes* and increased activity of invertase in the vacuole of leaves. For dry matter production of leaves, stem and total dry matter in the autumn and spring, there was a significant effect ( $P < 0.05$ ) for the contrast 1. In the period of spring, the variables dry matter yield of leaf, stem, total dry matter production and leaf / stem ratio showed significant effect ( $P < 0.05$ ) for the same contrast, The variables dry matter yield of leaf, stem, inflorescence and plant dry matter, showed significant effect ( $P < 0.05$ ) in the fall for contrast 3. In the spring only the variables dry matter yield of leaf, stem and total dry weight effects were observed for this contrast, and the best results recorded for cropping. The activity of enzymes did not show a pattern of response their function in activities of nitrogen fertilization or the use of use of the consortium or not, Combined with data growth, the study of enzymes demonstrates, in general, the they do not have damages due to the nitrogen or consortium.

**Key words:** fertilization, invertase, metabolism.

---

\* Adviser: Daniela Deitos Fries, D.Sc., UESB and Co-advisor: Paulo Bonomo, and

## **I – REFERENCIAL TEÓRICO**

### **1.1 INTRODUÇÃO**

As pastagens distribuídas em todos os continentes terrestres foram formadas de maneira natural ou artificial e têm sido exploradas das mais variadas formas pelo homem. Dependendo das escolhas regionais, muitas dessas pastagens vêm sendo utilizadas prioritariamente por bovinos e, em regiões tropicais e subtropicais, são geralmente caracterizadas por monoculturas de gramíneas manejadas extensivamente com níveis mínimos de fertilizante e suplementação, devidos principalmente pelos elevados custos (BARCELLOS et al., 2008).

O nitrogênio é o nutriente mais importante em sistemas de pastejo, tendo como maior fator limitante ao uso da fertilização nitrogenada o custo elevado dos fertilizantes, além disso, influencia significativamente na contaminação do ambiente. Portanto, a utilização de leguminosas fixadoras de nitrogênio tem potencial de ser uma prática de manejo eficiente para aumentar a produtividade e diminuir as taxas de degradação de pastagens tropicais, assim como, minimizar os impactos prejudiciais causados ao ambiente.

A utilização de pastagens consorciadas com gramíneas e leguminosas tem sido explorada com sucesso em regiões temperadas e subtropicais. As gramíneas e leguminosas C3, cultivadas em climas temperados, possuem métodos de fixação de nitrogênio semelhantes. E o nitrogênio fixado por essas plantas pode ser utilizado pelas gramíneas tropicais durante as fases do seu crescimento, reduzindo, assim, os custos com adubação nas propriedades rurais, favorecendo o plantio e a fixação de nitrogênio atmosférico no solo (MACHARIA et al., 2010). Quando as plantas conseguem assimilar de forma mais eficiente o nitrogênio disponível, maior será a sua reserva de energia para utilização nos momentos de estresse que esta possa vir a sofrer (VOLPE et al., 2008).

Os vegetais apresentam diferentes tipos de carboidratos de reserva, solúveis e insolúveis, e a predominância destes nos tecidos, bem como sua estrutura química, variam entre espécies, órgãos, tecidos e células, além de variar ao longo do dia e das diferentes estações do ano (LEWIS, 1984).

Esses carboidratos são oriundos da redução do carbono, ocorrente na etapa bioquímica da fotossíntese, e possuem diversas atribuições no metabolismo vegetal,

dentre elas, armazenamento, translocação de carbono, e proteção contra condições ambientais adversas, como restrição ou excedente hídrico, alta salinidade e temperaturas extremas (KELLER; PHARR, 1996). Sua distribuição entre os órgãos da planta é favorecida, entre outros processos, à atividade de enzimas, como as invertases, cuja ação ou alteração em função de algum fator deve ser estudada para um maior conhecimento da fisiologia e melhoria nas técnicas de manejo.

Diante desses aspectos, objetivou-se avaliar o efeito da presença de nitrogênio e do consórcio sobre a atividade de enzimas do metabolismo de carbono, as invertases, e crescimento de plantas de *Stylosanthes* cv. Campo Grande e de *Brachiaria decumbens*, em dois períodos do ano.

## 1.2 DEGRADAÇÃO DE PASTAGENS

A degradação das pastagens pode ser explicada como um processo dinâmico de degeneração ou de queda relativa da produtividade, e, portanto, é interpretada de diferentes formas pelos produtores que, nos dias de hoje, ainda fazem uso com o mínimo de insumos e submetem a um manejo ineficiente, tornando-as passíveis da ocorrência de uma possível degradação (MEIRA et al., 2004).

Definida por Macedo (1993) e Macedo e Zimmer (1993), a degradação de pastagem é o processo evolutivo de perda de vigor, no qual ocorre um declínio da produtividade, uma redução na capacidade de recuperação natural dos pastos para sustentar os níveis de produção, ficando sucessíveis a pragas, doenças, invasoras, podendo chegar a uma degradação avançada de todos os recursos naturais em detrimento da falta de manejo adequado.

O manejo e adubação são fundamentais para a manutenção da produtividade das pastagens ao longo do tempo. O uso de leguminosas é uma prática recomendada para recuperação de áreas degradadas, pois as leguminosas utilizam a própria vegetação para proteger o solo da erosão (BERTONI & LOMBARDI NETO, 2008). Outro grande benefício do seu uso é a produção de matéria orgânica que, através de sua incorporação, estimula diversos processos químicos e biológicos, melhorando sua fertilidade, além de exibirem um sistema radicular profundo e ramificado, aprofundando nas camadas do solo (AGUIAR & SILVA, 2005).

### 1.3 ESTILOSANTES CAMPO GRANDE

O gênero *Stylosanthes* pertence à família Fabaceae, que inclui 50 espécies, com um grande número de subespécies e variedades botânicas. É oriundo da América Central e do Sul, com maior número de cultivares dentre as leguminosas tropicais utilizadas para formação de pastagens (MILES & LASCANO, 1997).

As espécies *Stylosanthes guianensis*, *Stylosanthes capitata* e *Stylosanthes macrocephala* são as principais espécies com potencial de uso no Brasil, encontrando-se, atualmente, no mercado dois cultivares deste gênero, o *Stylosanthe Mineirão* e o *Stylosanthes Campo Grande* (SILVA, 2004).

O *Stylosanthes Campo Grande* foi lançado pela Embrapa Gado de Corte em 2000 e é composto pela mistura física de sementes melhoradas de *Stylosanthes capitata* e *Stylosanthes macrocephala*, na proporção de 80 e 20%, respectivamente, com a finalidade do uso em consórcio com gramíneas, principalmente braquiárias (VERZIGNASE E FERNANDES, 2002).

O *Stylosanthes capitata* possui hábito de crescimento ereto, podendo atingir até 1,5 m de altura, com flores variando do bege ao amarelo, sendo que o florescimento da espécie, em Campo Grande (MS), ocorre em maio. Já o *Stylosanthes macrocephala* apresenta crescimento semiereto ou decumbente, podendo atingir 1,5 m. É mais precoce que o *Stylosanthe capitata*, apresentando florescimento em abril, com flores amarelas, podendo ser encontrados exemplares com tonalidade bege (EMBRAPA, 2007).

O *Stylosanthes Campo Grande* apresenta bom potencial produtivo (12 a 13 toneladas de matéria seca/ha/ano), boa produtividade de sementes (200 a 400 kg/ha), resistência à antracnose e boa persistência sob pastejo (VERZIGNASE e FERNANDES, 2002).

Segundo Magalhães et al. (2012), esta leguminosa apresenta alto valor nutritivo, com teor de proteína bruta de 19,92% da MS e alta digestibilidade, o que, de acordo com os mesmo autores, a torna uma boa opção para a alimentação dos rebanhos bovinos. A boa palatabilidade desta leguminosa para bovinos, aliada ao seu valor nutritivo, confere bom desempenho animal (EMBRAPA, 2007).

Como a maioria das leguminosas, o *Stylosanthe Campo Grande* apresenta o processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) através da associação simbiótica de

suas raízes com bactérias do gênero *Rhizobium*. No consórcio com gramíneas, com proporção de 20% a 40% da leguminosa, o *Stylosanthe* Campo Grande fixa, em média, 60 a 80 kg de nitrogênio/ha/ano (EMBRAPA, 2007), sendo que esse nitrogênio fixado pode ser utilizado pela gramínea associada, estimulando a sua produção, reduzindo os gastos com fertilizantes nitrogenados, bem como a poluição ambiental.

Em outros trabalhos, como os realizados por Lins (2011), avaliando o capim-Tanzânia consorciado com *Stylosanthe* Campo Grande e capim-Tanzânia adubado com 75, 150 e 225 kg/ha/ano de nitrogênio, observou-se que as características morfogênicas, exceto a taxa de alongamento foliar, não são afetadas pela adubação nitrogenada ou pelo consórcio, além disso, foi verificado também que a pastagem consorciada apresenta índice de área foliar e interceptação luminosa semelhante à pastagem que recebeu 75 kg/ha de nitrogênio.

De acordo com Barcellos et al. (2008), as leguminosas forrageiras, ao realizar a fixação biológica do N atmosférico e contribuir com a produção animal, têm importância crucial, tanto para o aumento da produtividade, quanto para a sustentabilidade das pastagens.

#### 1.4 BRACHIARIA DECUMBENS

A *Brachiaria decumbens* é uma gramínea originária da África, apresenta características de boa adaptação ao clima tropical e subtropical, sendo uma gramínea perene, decumbente, e que ocupa facilmente o terreno, em sua totalidade, devido à presença de raízes adventícias nos nós inferiores dos colmos, alastrando-se facilmente uma densa vegetação. Pode chegar a 60-70 cm de altura, sendo de fácil manejo, e requer uma precipitação ideal 1200 mm, tendo, por isso, uma extraordinária resistência à seca (GOMIDE, 1997).

Atualmente, a *Brachiaria decumbens* é conhecida taxonomicamente como *Urochloa decumbens*. Na década de 50, o Brasil teve conhecimento sobre as gramíneas do gênero *Brachiaria*, no entanto, apenas nas décadas de 70 e 80 elas foram introduzidas nos pastos com o intuito de substituir forragens já existentes no Brasil, como o capim Gordura e capim Jaraguá, que eram as principais forragens utilizadas na década (SILVA, 2000). Segundo ANUALPEC (2008), metade das pastagens cultivadas no Brasil é do gênero *Brachiaria*, totalizando uma área de 100 milhões de hectares.

Com uma rápida dispersão, tanto por parte do homem como por intermédio de agentes naturais, esse gênero constitui uma das principais invasoras de plantações e pomares, o que ocasionou uma redução na formação das pastagens naturais (PITELLI; PAVANI, 2005).

A *Brachiaria decumbens* apresenta boa adaptação no Brasil, principalmente nas áreas dos cerrados, sendo, por isso, uma gramínea pouco exigente às condições de média fertilidade, alcançando bons resultados quando utilizados em torno de 2 a 5 kg de sementes viáveis por hectare (VILELA, 2013).

De acordo com Oliveira et al. (2006), a produção de matéria seca é um dos principais indicadores no comportamento do pasto, podendo ser afetada de acordo com o manejo utilizado: irrigação, intensidade de uso, época do ano, adubação, altura de corte.

A parte morfológica e alguns hábitos podem diferenciar a *Brachiaria decumbens* das demais, sendo o seu uso diretamente relacionado ao pastejo e à produção de feno. Possui uma boa palatabilidade, como também boa digestibilidade, e a sua produção média varia entre 8 a 12 toneladas MS/h/ano (VILELA, 2013).

Gomes Júnior et al. (2001) observaram que o capim *Brachiaria decumbens*, sob pastejo, sofre alterações na composição químico-bromatológica na transição entre as estações chuvosa e seca. Essas mudanças acarretam na diminuição dos carboidratos solúveis e um acréscimo nas frações não degradáveis da parede celular, aumentando, assim, a perda de digestibilidade. Também foi observada uma elevação da fração indisponível dos compostos nitrogenados.

Cruz et al. (2009) observaram que a *Brachiaria decumbens* em consórcio com milho contribui para reduzir o pH da subparcela, assim como o Ca + Mg, SB, CTC e V% na camada de 0-20 cm, contribuindo para que os tratamentos de milho consorciado com *Brachiaria decumbens* tivessem maiores quantidades de raízes em relação aos tratamentos milho solteiro, principalmente nos 20 cm de profundidade.

## 1.5 CONSÓRCIO DE GRAMÍNEA X LEGUMINOSA

Há mais de um século as leguminosas forrageiras de clima temperado são alvo de estudos científicos, principalmente as espécies da alfafa e trevo. No Brasil, centro de origem e diversificação de importantes gêneros de leguminosas forrageiras tropicais, estas foram introduzidas a partir da década 50 e, desde então, os estudos acerca dessas espécies vêm sendo aprimorados a cada dia.

De acordo Andrade e Karia (2000), desde 1940, há pesquisas com *Stylosanthes*. Porém, experiências com leguminosas em pastagens, no entanto, são mais negativas do que histórias de sucesso, por variadas razões.

Os principais insucessos com as leguminosas de três décadas atrás podem ser explicados pelo uso de genótipos com baixa resistência a doenças, baixa taxa de ressemeadura natural em pastos de gramíneas, manejo animal inadequado (super ou subpastejo) e técnicas inadequadas de implantação e manutenção de leguminosas em pastagens de solos pobres e ácidos, o que é um desafio até os dias de hoje. Havia e existe ainda até hoje uma baixa capacidade gerencial nas propriedades, o que impede a adoção de novas tecnologias, especialmente as mais específicas, como a de uso de leguminosas (PARIS et al., 2009).

Até a década de 1970, as pastagens nativas tropicais eram ricas em diversidade de leguminosas associadas a algumas poucas gramíneas, mas a capacidade de suporte era baixa e os ganhos de peso anuais eram bem limitados. A partir desta data, ocorreu expansão das braquiárias, principalmente a *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, proporcionando ganhos de peso bem mais acentuados, e taxas de lotação superiores àquelas das pastagens nativas, ocorrendo, por outro lado, problemas com fotossensibilização e a praga da cigarrinha das pastagens, que proporcionou diversos problemas de produção. Atrelado a isso, a falta de um manejo adequado e principalmente a não reposição de adubos, ocasionou a degradação dessas pastagens, muitas delas repercutindo até os dias atuais. Grande parte do problema é a baixa fertilidade dos solos tropicais com elevada acidez e carência de matéria orgânica e fósforo. Neste contexto, a presença de leguminosa forrageira nas pastagens supriria não apenas o baixo nível de nitrogênio dos solos, como também a baixa qualidade proteica

disponível na dieta dos ruminantes em pastejo, seja pelo consumo direto da leguminosa ou pelo aporte de nitrogênio à gramínea associada (SHELTON et al., 2005).

Andrade et al. (2000) apresentaram claramente a chamada “fome de N” nas pastagens tropicais ao comparar a produção potencial de gramíneas, considerando-se as taxas de acúmulo de matéria seca, eficiência de utilização e capacidade suporte com valores médios observados no potencial das forrageiras. Isso denota o quanto as pastagens brasileiras ainda são pouco produtivas, e citam diversos trabalhos como crônica a deficiência de nitrogênio, variando de 60 a 125 kg/ha.

Em se tratando de consórcio com leguminosas, o *Stylosanthes* Campo Grande, nos cerrados, pode ser considerado o primeiro caso de sucesso de leguminosa tropical utilizada em larga escala em pastagens consorciadas. A cv. Campo Grande originou-se de plantas sobreviventes de um antigo campo de seleção, localizado em uma fazenda em Campo Grande (MS), que após o término do experimento, foi submetido ao manejo normal da fazenda. Após vários anos, as plantas selecionadas naturalmente se apresentaram altamente vigorosas e tolerantes à antracnose. Posteriormente, foram incorporadas mais linhagens das duas espécies para a composição da cultivar. Esta cultivar é composta por uma mistura física de sementes com 80% de *Stylosanthes capitata* e 20% *Stylosanthes macrocephala* (EMBRAPA GADO DE CORTE, 2007).

Para a boa persistência de Estilosantes Campo Grande nas pastagens, é necessário o uso de estratégias de manejo que permita um aumento do banco de sementes dessas espécies no solo para que ocorra a ressemeadura natural e o crescimento das novas plantas ocorra em condições mínimas de competição (BARCELLOS, 2008).

Experiências com uso de leguminosas forrageiras no passado demonstraram claramente que o sucesso de pastagens consorciadas nos trópicos depende basicamente de um produto de qualidade, isto é, uma cultivar com boa adaptação, crescimento vigoroso, boa produção de sementes e fixação de nitrogênio, além de experimentação com foco no produtor, de preferência em propriedades particulares, para que os produtores possam observar a importância entre a relação campo/academia. O manejo deve ser estabelecido considerando a necessidade de formação de banco de sementes, já que a maioria das leguminosas herbáceas são bianuais. Os testes com animais devem ser conduzidos o mais cedo possível, nas etapas de avaliação ainda em áreas de preferência já consorciadas (NASCIMENTO JÚNIOR D. & ADESE B. 2004).

## 1.6 ADUBAÇÃO NITROGENADA

O nitrogênio é o nutriente de maior importância para o crescimento e a manutenção das plantas em condições de cultivo. Ele faz parte dos principais constituintes necessários para a manutenção da produção das gramíneas, dentre eles, as proteínas, que têm função ativa no metabolismo celular, como, por exemplo, na síntese de compostos orgânicos para a formação da estrutura vegetal, e clorofilas, responsáveis pela absorção da radiação para a fotossíntese (TAIZ, ZEIGER, 2006). Sua aplicação no solo influencia em características do porte da planta, tais como: tamanho das folhas e do colmo, aparecimento e desenvolvimento dos perfilhos, dentre outros (TAIZ e ZEIGER, 2004).

A falta do nitrogênio no solo compromete significativamente o crescimento da planta, assim como os teores de proteína, cuja deficiência prejudica o atendimento das exigências do animal. O nitrogênio é um macronutriente primário ou nobre, além de ser o mais utilizado, mais extraído e mais exportado pelas culturas. Sendo assim, a sua utilização na agricultura é essencial para as plantas cumprirem seu ciclo de vida (WERNER, 2001).

A adubação nitrogenada pode estimular a produtividade das pastagens, que pode variar quanto ao nível utilizado e à espécie. O suprimento de nitrogênio interfere na recuperação da forrageira, após a desfolhação, pois altera as características e adaptações morfofisiológicas apresentadas pelas plantas na época. O nitrogênio no solo tem uma dinâmica diferente dos demais nutrientes, tem alta mobilidade e sofre várias transformações proporcionadas por microrganismos, possui alta movimentação em profundidade, transforma-se em formas gasosas, se perde por volatilização e tem baixo efeito residual (AGUIAR & SILVA, 2005).

Na natureza, a principal fonte de nitrogênio está na atmosfera, onde o gás  $N_2$  se faz presente na proporção aproximada de 79% do volume total do ar (MARSCHNER, 1995; GAMA, 2013).

Para ser aproveitado pelas plantas, há necessidade da quebra da ligação tripla entre os dois átomos de nitrogênio e a conversão às formas combinadas, principalmente, com hidrogênio e oxigênio. A conversão do  $N_2$ , para as formas combinadas pode se dar

por processo industrial, pela fixação biológica e pelas descargas elétricas (TAIZ, ZEIGER, 2006).

O aporte de nitrogênio que as leguminosas conferem à pastagem é basicamente por meio da transferência do nitrogênio, biologicamente fixado, que ocorre através da associação simbiótica de suas raízes com bactérias do gênero *Rhizobium*, pela decomposição de raízes e nódulos ou decomposição de resíduos de folhas e caules (LIMA et al., 2003).

Lopes et al. (2011) descrevem que as maiores contribuições de qualquer leguminosa forrageira é seu potencial de incorporar ao solo e às pastagens o nitrogênio atmosférico, quando em associação com bactérias fixadoras do gênero *Rhizobium*, possibilitando a redução de fertilizantes nitrogenados e elevando o potencial produtivo das pastagens.

O nitrogênio presente no solo encontra-se nas formas de nitrato, amônio, ureia, as quais são absorvidas pelas raízes das plantas, em processos que se iniciam pelo fluxo de massa no contato íon-raiz (MALAVOLTA, 1997). O nitrato tem sido a forma preferida pelas raízes, mas pesquisas têm demonstrado benefícios para gramíneas tropicais, quando o fornecimento de parte do nitrogênio ocorre na forma de amônio (ABREU, 1994; MONTEIRO et al., 1977; MORO et al.; 2013).

Uma vez absorvido pelas raízes, o nitrato é reduzido a nitrito, e finalmente a amônio para ser aproveitado pelas plantas, em reações mediadas pelas enzimas redutase do nitrato e redutase do nitrito (TAIZ, ZEIGER, 2006).

O nitrogênio é o nutriente que proporciona maior impacto na produtividade das gramíneas forrageiras, desde que alguns dos outros fatores de produção não estejam limitando o efeito desse nutriente. A produção da planta forrageira depende do genótipo e de suas características morfogênicas e estruturais (LEMAIRE; AGNUSDEI, 1999).

O fornecimento de nitrogênio normalmente resulta em sensível aumento no número de perfilho e no número de folhas verdes (BONFIM-DA-SILVA, 2005; ARTUR et al., 2013). Além disso, também pode permitir maior flexibilização do período de diferimento da pastagem, uma vez que o nitrogênio aumenta a taxa de crescimento da gramínea e, conseqüentemente, a quantidade de forragem produzida por unidade de tempo. Dessa forma, é possível obter produção de forragem semelhante, mesmo adotando-se distintos períodos de diferimento. Diferenças na dose de nitrogênio

aplicada no diferimento seriam responsáveis por essa produção semelhante de forragem (SANTOS et al., 2009).

Segundo Alexandrino et al. (2005), o crescimento e as características químicas e morfológicas do capim-marandu (*Brachiaria brizantha*), submetido a cortes e a doses de nitrogênio, apresentaram um grande aumento de perfilhamento ao longo do tempo em relação à adubação com nitrogênio. Além disso, esses autores observaram também que as plantas que não foram adubadas não tiveram um bom perfilhamento ao longo do tempo, demonstrando, assim, a eficiência desse nutriente sobre a forragem.

Grano et al. (2005) verificaram que a produção de biomassa da *Brachiaria decumbens* teve um incremento, de acordo com o aumento das doses de nitrogênio e enxofre. Esses resultados corroboram os encontrados por Bonfim-Silva & Monteiro (2006), que trabalharam com nitrogênio e enxofre em pastagem degradada e verificaram que as doses de nitrogênio foram determinantes para a produção de massa seca das lâminas foliares e dos colmos mais bainha do capim-braquiária.

As leguminosas forrageiras têm um papel importante como fornecedoras de nutrientes, quando em sistema de plantio direto já estabelecido, haja vista que essas plantas podem disponibilizar nutrientes, dentre eles o nitrogênio para culturas sucessoras, em virtude da rápida decomposição dos seus tecidos (SILVEIRA et al., 2005). Porém, Sales et al. (2012) enfatizam a importância da utilização do nitrogênio também na formação das pastagens, uma vez que ao desenvolverem o estudo sobre a adubação nitrogenada na formação do pasto de *Arachis pintoi* cv. Belmonte verificaram que esse tipo de adubação foi eficiente, tanto na produção de folhas, como no desenvolvimento de estolões, pois houve um aumento na taxa fotossintética e, assim, no estabelecimento das plantas.

## 1.7 METABOLISMO DE CARBOIDRATOS E PRODUÇÃO DE BIOMASSA

Um dos pontos limitantes à produtividade de ruminantes, isto é, ganho de peso em intervalos mais curtos, é o consumo. Dessa maneira, a capacidade dos animais consumirem alimentos em quantidades adequadas para manutenção de suas exigências fisiológicas é um dos fatores mais importantes dos sistemas de produção (ZANINE; JUNIOR, 2006). O consumo, por sua vez, é regulado por fatores como disponibilidade de alimento, característica animal e condição de alimentação.

Considerando-se o estágio de desenvolvimento das plantas, é possível perceber que à medida que estas crescem, sua densidade e produção de folhas decrescem, contrapondo-se com a proporção do caule (teores de moléculas estruturais da parede celular), como celulose, hemicelulose e lignina, que aumentam. Paralelo a isso, há um decréscimo do conteúdo celular, desfavorecendo o consumo e digestibilidade desse vegetal, reduzindo o aporte energético (MINSON, 1990).

Os vegetais apresentam diferentes tipos de carboidratos de reserva, solúveis e insolúveis, e a predominância destes nos tecidos, bem como sua estrutura química, variam entre espécies, órgãos, tecidos e células, além de variar ao longo do dia e das diferentes estações do ano (LEWIS, 1984). Esses carboidratos são oriundos da redução do carbono, ocorrente na etapa bioquímica da fotossíntese, e possuem diversas atribuições no metabolismo vegetal, dentre elas, armazenamento, translocação de carbono, e proteção contra condições ambientais adversas, como restrição ou excedente hídrico, alta salinidade e temperaturas extremas (KELLER; PHARR, 1996).

A fotoassimilação do dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) resulta na produção de glicose, seguida da síntese de um dissacarídeo denominado sacarose, caracterizado como o principal açúcar translocado pelas plantas através do floema. A sacarose, por ser de natureza não redutora, pode ser translocada e armazenada nos vacúolos celulares, não sendo metabolizada até que seja necessário. Essa molécula é altamente solúvel e inerte, e como tal, não forma ligações covalentes com grupos amino livres, quando em contato com proteínas. Além disso, a sacarose é a molécula que retém a maior energia livre (-6600 cal/mol) de hidrólise conhecida para uma ligação glicosídica (SOUZA et al., 2005).

O carregamento de sacarose via floema é um transporte ativo que depende do cotransporte de  $H^+$  por transportadores da família Sut (AYRE, 2011; CAI et al., 2012). Para tanto, é necessário que haja um gradiente de prótons, que é estabelecido por uma  $H^+$ -ATPase, localizada na membrana plasmática das células do tubo crivado (BOUCHÈ – PILLON et al., 1994; WARD et al, 1998). Além de fornecer substrato para a síntese de material celular e carboidratos de reserva, como o amido e frutano, a sacarose atua como molécula sinalizadora do metabolismo vegetal, modulando a expressão de genes e o *turnover* de proteínas (SOUZA et al., 2005).

A clivagem da sacarose é fundamental para a manutenção da vida de plantas multicelulares. Em tal mecanismo apenas duas classes enzimáticas estão envolvidas, sendo elas as invertases, que produzem glicose e frutose; e a sacarose sintase, que produzem UDP-glicose e frutose. A regulação dessas reações reversíveis, portanto, é a problemática central do metabolismo de carbonos nos vegetais (KOCH, 2004).

As invertases contribuem expressivamente para a importação de sacarose e sinalização de açúcares nas células, particularmente durante o crescimento e expansão de estruturas e tecidos. Esta enzima possui três isoformas, duas ácidas, com atividade máxima em pH 5,5. Uma dessas isoformas é encontrada predominantemente em tecidos em crescimento, estando ligadas à parede celular. Esta isoforma está envolvida na partição de sacarose fora dos tecidos dreno, no apoplasto, estabelecendo um gradiente de concentração de sacarose dos tecidos fonte para os dreno. A outra isoforma ácida está localizada nos vacúolos das células, relacionando-se com o armazenamento de açúcares, regulação osmótica e respostas a estresses abióticos. Além disso, a invertase vacuolar pode controlar a rota primária de clivagem da sacarose em tecidos em expansão ou maduros, contribuindo para o fluxo de hexoses através do tonoplasto, intermediando a entrada destas no metabolismo citoplasmático (ROITSCH; GONZÁLEZ, 2004; YAO et al., 2009).

A invertase neutra ou alcalina está localizada no citoplasma, sendo considerada uma enzima de manutenção, uma vez que está envolvida na degradação da sacarose, quando as atividades da invertase ácida da parede celular e sacarose sintase estão baixas. A invertase neutra solúvel apresenta um máximo de atividade em pH 7,0 e predomina em tecidos completamente expandidos. Isso sugere o envolvimento desta enzima no catabolismo e acúmulo de sacarose no vacúolo (KOCH, 2004). De acordo com as informações supracitadas, estudos relataram que há alterações de intensidades

distintas e significativas nos níveis enzimáticos das invertases neutra e ácida, quando em diferentes estádios de maturação da planta (LEITE et al., 2009). Além disso, em estudos de anelamento de caule, Santos (2009) verificou que, em plantas ainda em desenvolvimento, há uma predominância da invertase ácida em relação à invertase neutra, principalmente em folhas inferiores.

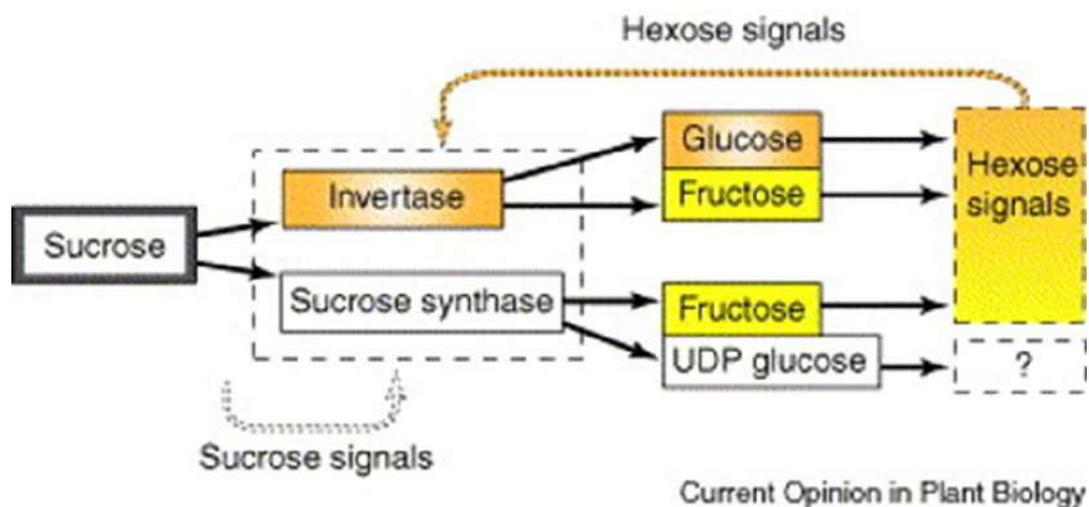


Figura 1. Ilustração das duas classes enzimáticas responsáveis pela clivagem de sacarose.

Fonte: Koch, 2004.

## II – OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da adubação nitrogenada e do consórcio (*Brachiaria decumbens* X *Stylosanthes* Campo Grande) sobre a atividade das invertases, aliada ao crescimento em dois períodos do ano.

## III – MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 EXPERIMENTO

O experimento foi realizado em uma área estabelecida de *Brachiaria decumbens*, localizada na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – Campus Juvino Oliveira, situada nas seguintes coordenadas: “15°38’46” de latitude sul, 40°15’24” de longitude oeste e altitude média de 280 m, no município de Itapetinga-BA, durante o período de abril de 2013 a fevereiro de 2014. O clima da região, segundo a classificação de Koppen, é do tipo “Cw”, mesotérmico úmido e subúmido quente, com inverno seco, cuja precipitação média anual é de 867 mm, segundo estudo feito por Murta et al. (2005). O período de verão é quente e chuvoso, compreendendo os meses de outubro a março, e o período seco é frio, indo de abril a setembro.

O ensaio foi conduzido em um esquema fatorial 2 x 3, sendo duas doses de nitrogênio (0 e 50 kg/ha de N) e três arranjos de plantio (*Stylosanthes* cv. Campo Grande solteira, *Brachiaria decumbens* solteira e consórcio da *Stylosanthes* cv. Campo Grande + *Brachiaria decumbens*), disposto no delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições, totalizando 24 canteiros de 2 x 3 m cada, com uma área útil para coleta de 1 x 2 (2 m<sup>2</sup>), e um espaçamento de 80 cm entre os mesmos.

Foi utilizado um solo classificado como Neossolo Quartzarênico órtico, de textura Franco Argilosa, coletado na camada de 0-20 cm de profundidade em todas as parcelas, de onde foi retirada uma subamostra para realização da análise física e química do solo no Departamento de Engenharia Agrícola e Solos da UESB.

Em dezembro de 2013, foi realizado um corte de uniformização em toda a área, a uma altura de 5 cm da superfície do solo, e realizado a semeadura da leguminosa, seguindo a recomendação de plantio em consórcio de 3kg de sementes/ha (3,3g de semente/parcela com espaçamento entre linhas de 50cm), para o plantio da leguminosa solteira a recomendação de 5kg de semente/ha (5,3g de semente/parcela com espaçamento entre linha de 30cm), utilizando o VC de 57%. Foi realizado novo corte de rebaixamento da *Brachiaria decumbens* em março de 2013, quando foi realizada também a adubação nitrogenada de 50 kg/ha de N, que corresponde a 67,0g/parcela de ureia. As avaliações foram realizadas em todas as estações do ano, a partir de abril de 2013.

As variáveis climáticas, durante o período experimental, foram obtidas em local próximo à área de plantio. As coletas para avaliações, de acordo as estações do ano, foram em maio/2013 (outono) e novembro/2013 (primavera). Foram coletadas a terceira ou quarta folha completamente expandida e, no momento da coleta, as mesmas eram imersas em nitrogênio líquido para cessar a atividade enzimática e, posteriormente, eram armazenadas em freezer  $-80^{\circ}\text{C}$ , para em seguida serem feitas as análises da atividade enzimática.

Os dados referentes à temperatura (máxima, mínima e média) e ao índice pluviométrico do período de vigência do experimento (Figura 1) foram obtidos através do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

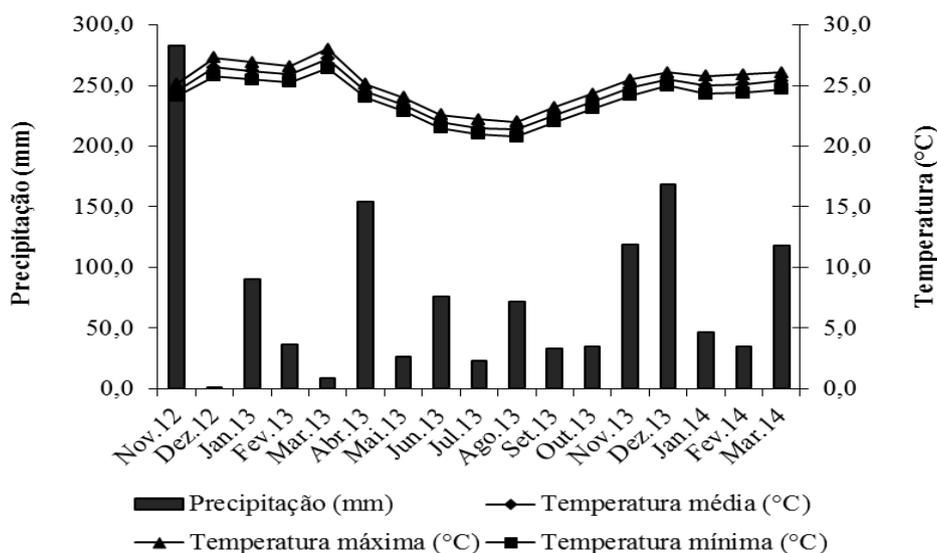


Figura 2 - Precipitação (mm) e temperatura (°C) máxima, mínima e média durante o período experimental (nov/12 - mar/14).

Fonte: INMET

## 3.2. ATIVIDADE ENZIMÁTICA

### 3.2.1 EXTRAÇÃO E INCUBAÇÃO DAS INVERTASES

A extração e incubação das invertases solúveis (IAV e INC) foram realizadas conforme descrito por Zeng et al. (1999), e as invertases insolúveis (IAPC), segundo Cazetta et al. (1999), ambas modificadas por Fries et al. (2003).

A Invertase Ácida do Vacúolo e a Invertase Neutra do Citosol foram extraídas pela homogeneização de 200 mg de massa fresca de folhas completamente expandidas, maceradas em cadinho de porcelana com nitrogênio líquido, em 1,5mL do tampão de extração contendo 100 mM Fosfato de Potássio (pH 7.5), 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 20 mM Ácido Ascórbico, seguido pela centrifugação a 9.000 rpm por 20 minutos a 4°C. O sobrenadante foi coletado para incubação da IAV e INC.

Para extração da Invertase Ácida da Parede Celular, o pellet foi ressuspenso e homogeneizado com 800 µL do seguinte tampão: 200 mM Citrato de Sódio (pH 4.8), 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 20 mM Ácido Ascórbico, 1M NaCl. Em seguida, realizou-se centrifugação a 9.000 g por 20 minutos, a 4°C, e o sobrenadante foi coletado para incubação da IAPC.

A atividade das enzimas foi realizada em tampão contendo 100 mM de Fosfato de Potássio (pH 7.5), 0,5 mM MgCl<sub>2</sub> para INC e em tampão contendo 200 mM de Citrato de Sódio (pH 4.8), 0,5 mM MgCl<sub>2</sub>, para IAV e IAPC, ambos acrescidos de 200mM Sacarose, em um volume final de 400 µL.

A incubação foi realizada nos tempos zero (T0) e sessenta minutos (T60). Para o T0, 100 µL da amostra foram homogeneizadas em eppendorf e a reação, imediatamente, paralisada em N<sub>2</sub> líquido. Reações há 0 minuto foram determinadas para eliminar açúcares redutores pré-existentes. Para o T60, 100 µL da amostra foram homogeneizadas em eppendorf e incubadas em banho-maria, a 30°C, por 60 minutos. Em seguida, a reação foi paralisada em N<sub>2</sub> líquido.

### 3.2.2 QUANTIFICAÇÃO DAS INVERTASES

As enzimas foram quantificadas por espectrofotometria no comprimento de onda de 540nm, utilizando-se curva padrão de glicose e pelo método do ácido 3-5dinitrossalicílico (DNS), proposto por Miller (1959). A atividade das enzimas foi obtida pela diferença dos valores após 60 minutos de incubação daqueles do T0. Os resultados obtidos foram expressos em  $\mu\text{mol gli. MF}^{-1}.\text{h}^{-1}$ .

### 3.3 AVALIAÇÕES MORFOGÊNICAS E PRODUÇÃO

Os períodos de avaliação do crescimento foram: 20 de abril a 20 de maio/2013 (outono), 20 de outubro a 20 de novembro/2013 (primavera), quando foram avaliadas, para o *Stylosanthes* campo grande e *Brachiaria decumbens*, respectivamente: Massa seca de folhas e caule, através de secagem em estufa a 65°C por 72 horas, de subamostra de uma área de 2m<sup>2</sup>.

Para o estudo do crescimento, foi marcado 5 estolão/perfilho da leguminosa e gramínea, respectivamente, por parcela, com fitas coloridas, totalizando vinte repetições por tratamento. As medições foram realizadas a cada três dias, durante o período experimental. Em cada estolão marcado, foram avaliados: aparecimento do ápice foliar e exposição completa da folha, comprimento do estolão/caule; número, comprimento e largura das folhas ou folíolos, que constituem a folha da leguminosa; número de folhas senescentes ou mortas; número de perfilhos secundários, e altura do dossel. A partir desses dados, foram avaliadas as características morfogênicas (taxa de aparecimento foliar, filocrono, taxa de alongamento da folha e do estolão/caule) e estruturais (número de folhas verdes, largura e comprimento final dos folíolos/folhas, do pecíolo das leguminosas e do caule). Essas variáveis foram calculadas da seguinte maneira:

A taxa de aparecimento foliar ( $TA_pF$ ), obtida pelo número de folhas (pecíolos) surgidas nos estolões/caules marcados de cada parcela, dividido pelo número de dias de avaliação (folhas/dia);

O filocrono correspondeu ao inverso da  $TA_pF$  (dia/folha);

A taxa de alongamento de folha  $TA_lF$  (mm/dia), obtida pelo comprimento final (cm) da folha, dividido pelo intervalo de dias entre o aparecimento e expansão da lígula.

A taxa de alongamento do caule  $TA_1C$  (mm/dia), obtida pela diferença entre comprimento final (cm) e comprimento inicial do caule (cm), dividido pelo intervalo de dias entre as medidas.

Número total de folhas verdes, obtido pela contagem de número de folhas em expansão e expandidas;

Largura e comprimento final dos folíolos/folha (cm), obtidos pela média da medida dos quatro folíolos de folhas das leguminosas ou folha da gramínea completamente expandida;

Comprimento do pecíolo, medida do comprimento do pecíolo nas leguminosas em folíolos expandidos;

Comprimento final do caule (cm) obtido pela diferença entre a medida inicial e final do estolão no período experimental;

Número de caule/ramificação secundários e terciários, obtido pela contagem do caule/ramificação secundários e terciários surgidos no período avaliado;

Número de flores estimado pela contagem do número de flores, no final do período experimental.

Altura do dossel, medidas das alturas do dossel nas parcelas.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, para as variáveis, cujo efeito foi significativo, o desdobramento foi feito por contraste ortogonais, adotando até 5% de probabilidade para o erro tipo 1. Os contrastes avaliados foram o efeito da adubação na planta em monocultivo (Estilosantes campo grande ou Braquiária solteira sem adubação nitrogenada versus adubada com 50 kg de N/ha, contraste 1 vs 2), o efeito da adubação na planta consorciada (Estilosantes Campo Grande ou Braquiária consorciada sem adubação nitrogenada versus adubada com 50 kg de N/ha, contraste 3 vs 4) e Estilosantes campo grande ou Braquiária em monocultivo ou consorciadas independente da adubação, contraste 1+2 vs 3+4.

## I.V ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados estatísticos foram submetidos à análise de regressão múltipla, com seleção de um modelo linear, cujos coeficientes foram avaliados pelo teste t, adotando-se  $\alpha = 0,05$ . Testou-se inicialmente uma equação com efeito linear, quadrático e cúbico, além dos efeitos de interação dos fatores Enzimas e doses de nitrogênio. Para o modelo escolhido, foi apresentado o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) para avaliar a adequação do modelo.

## V – RESULTADO E DISCUSSÃO

### 5.1 ATIVIDADE ENZIMÁTICA

A atividade da invertase ácida da parede celular (IAP) aumentou significativamente em função da presença de nitrogênio em folhas de *Stylosanthes* em sistema de cultivo solteiro e consorciado com *Brachiaria decumbens*, assim como em caules dessas plantas no consórcio, durante o outono (Figura 3 A e B). Por outro lado, em caules de *Stylosanthes* solteiro, o nitrogênio influenciou em redução na atividade dessa enzima (Figura 3 B).

O nitrogênio não influenciou a atividade da invertase ácida do vacúolo (IAV) em folhas e caules de *Stylosanthes* solteiro, entretanto, promoveu um aumento em folhas e uma redução em caules das plantas consorciadas (Figura 3 C e D). Já para a invertase neutra do citosol (INC), houve efeito positivo do nitrogênio para folhas e caules de plantas solteiras e folhas de plantas consorciadas (Figura 3 E e F).

As invertases promovem a clivagem da sacarose nas células e as isoformas dessas enzimas encontram-se em locais específicos, indicando uma atuação mais direcionada, como a promoção de um gradiente de sacarose, favorecendo os órgãos dreno pela invertase ácida da parede celular (KOCH, 2004), regulação osmótica pela ação da invertase ácida do vacúolo (KOCH, 2004) e manutenção celular pela invertase neutra do citosol (ROITSCH, 2000). Apesar disso, alguns autores observaram alterações distintas nos níveis enzimáticos em função de estágio de desenvolvimento ou em

resposta a ações externas (ROITSCH & GONZÁLEZ, 2004), sugerindo que a atuação dessas enzimas pode variar em função de qualquer fator. Dessa forma, todas podem estar relacionadas à manutenção, ajustamento osmótico ou outro. Em *Stylosanthes*, o nitrogênio, de maneira geral, promoveu aumento na atividade das invertases de folhas, independente do consórcio. No caule, o efeito desse nutriente não obedeceu a um padrão, pois promoveu redução da invertase ácida da parede celular nas plantas solteiras e aumento nas consorciadas, assim como redução da invertase ácida do vacúolo no consórcio e aumento da invertase neutra do citosol nas plantas solteiras.

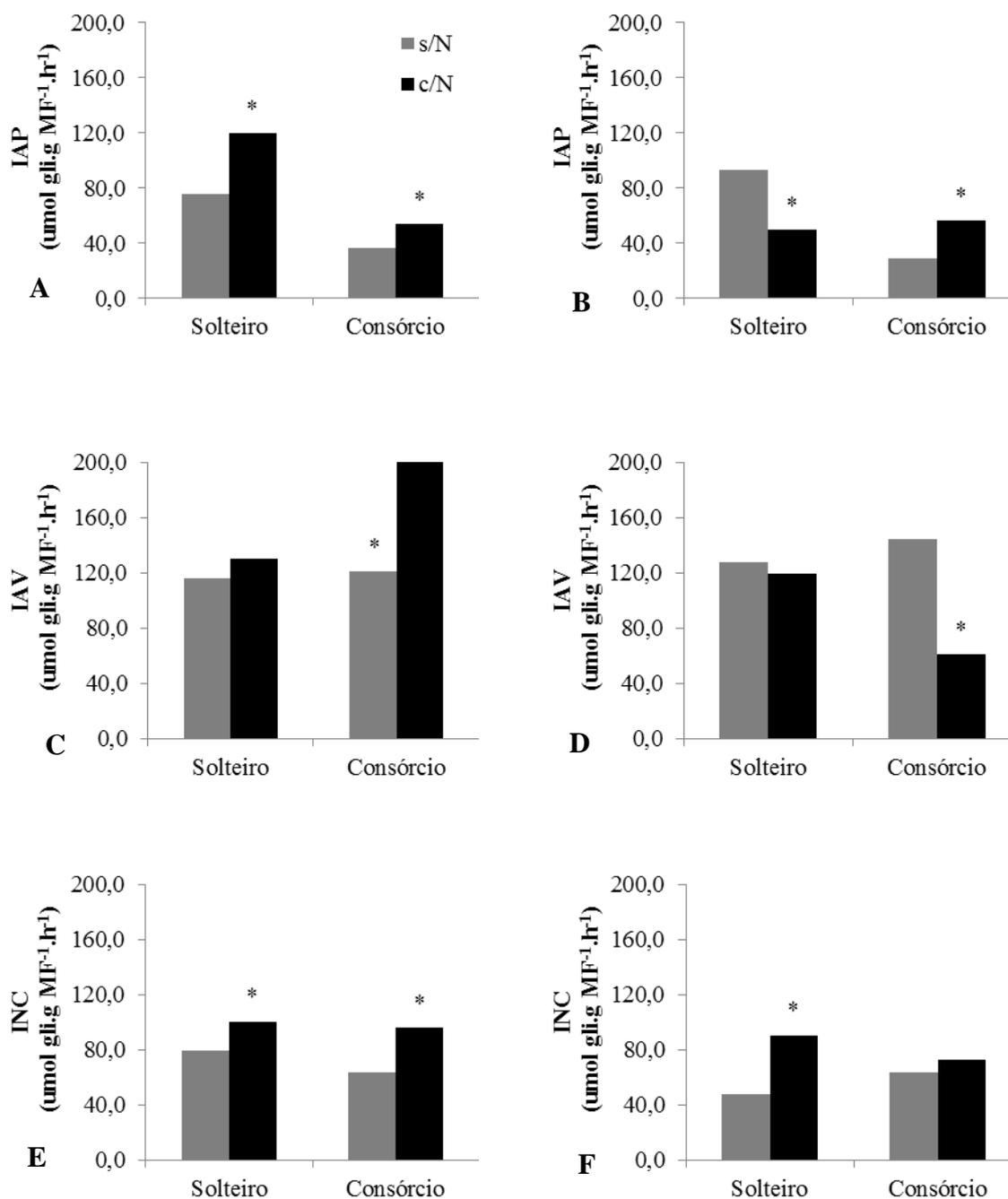


Figura 3. Atividade da invertase ácida da parede celular (IAP) (A e B), invertase ácida do vacúolo (IAV) (C e D) e invertase neutra do citosol (INC) (E e F) em folhas (A, C e E) e caules (B, D e F) de *Stylosanthes* cultivado solteiro ou em consórcio, na ausência (s/N) ou presença de nitrogênio (c/N), no período da outono. \* Significativo a  $\alpha=0,05$  de probabilidade de erro tipo I. 1: contrastes entre plantas solteiras com ou sem adubação nitrogenada; 2: contrastes entre plantas consorciadas com ou sem adubação nitrogenada.

Ao analisar a atividade total das invertases, ou seja, a soma da atividade das três invertases juntas, verificou-se que, no período do outono, houve um aumento significativo ( $P>0,05$ ) em função do nitrogênio apenas nas folhas de *Stylosanthes*, tanto

em sistema de cultivo solteiro quanto consorciado com *Brachiaria decumbens* (Figura 4 A). Nas plantas solteiras, esse aumento (29%) foi resultado somente da IAP e da INC, enquanto que, quando as plantas estavam em consórcio, as três isoformas foram responsáveis pelo aumento de 60% na atividade total das invertases. No caule, a variação observada em função do nitrogênio não interferiu na atividade total, indicando que pode ter havido a compensação de uma em detrimento da outra (Figura 4B).

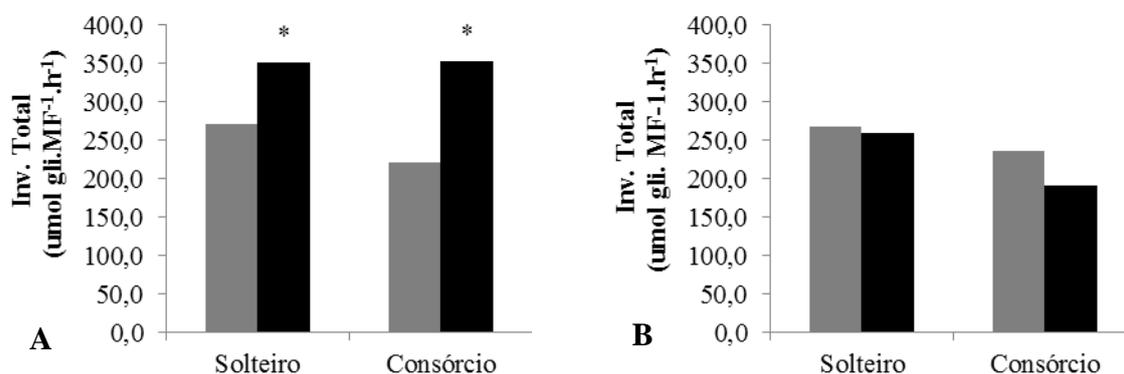


Figura 4- Invertase Total em folhas (A) e caules (B) de *Stylosanthes* cultivado solteiro ou em consórcio, na ausência (s/N) ou presença de nitrogênio (c/N), no período da outono. \* Significativo a  $\alpha=0,05$  de probabilidade de erro tipo I. 1: contrastes entre plantas solteiras com ou sem adubação nitrogenada; 2: contrastes entre plantas consorciadas com ou sem adubação nitrogenada.

Para açúcar redutor no período do outono, a presença do nitrogênio influenciou apenas os teores de açúcar nas folhas e caules de plantas de *Stylosanthes* de cultivo solteiro (Figura 5 A e B).

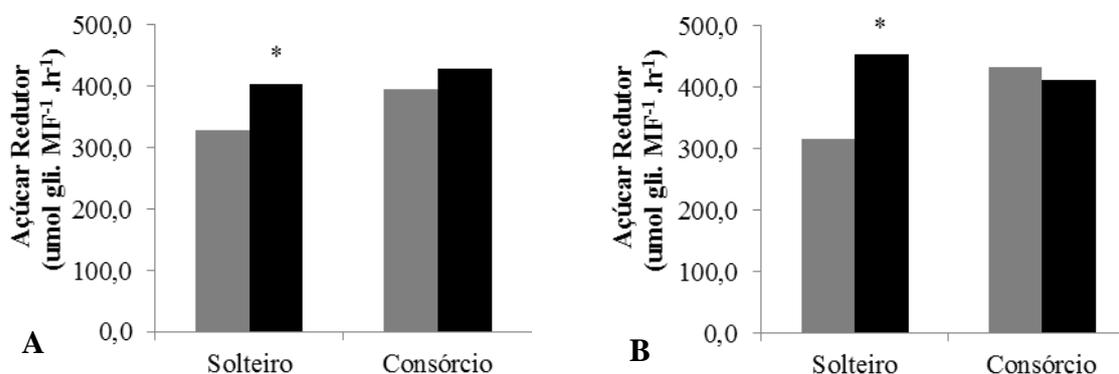


Figura 5- Açúcar redutor em folhas (A) e caules (B) de *Stylosanthes* cultivado solteiro ou em consórcio, na ausência (s/N) ou presença de nitrogênio (c/N), no período do outono. \* Significativo a  $\alpha=0,05$  de probabilidade de erro tipo I. 1: contrastes entre plantas solteiras com ou sem adubação nitrogenada; 2: contrastes entre plantas consorciadas com ou sem adubação nitrogenada.

Ao analisar o efeito do consórcio sobre as plantas estudadas, verificou-se uma redução ( $P < 0,05$ ) na atividade da invertase ácida da parede celular em folhas e caules de *Stylosanthes* em função do consórcio e aumento na atividade da invertase ácida do vacúolo nas folhas (Tabela 1). Ao mesmo tempo, o consórcio não influenciou ( $P > 0,05$ ) na atividade das outras invertases (invertase neutra do citosol nas folhas, invertase ácida do vacúolo e invertase neutra do citosol no caule) no período do outono (Tabela 1). Essas variações refletiram na atividade total das invertases, não sendo verificada influência do consórcio nas folhas de *Stylosanthes*, nas quais a redução da invertase ácida da parede celular compensou o aumento da invertase ácida do vacúolo. No entanto, no caule, a redução da atividade total das invertases pode ter ocorrido por influência dos resultados da invertase ácida da parede celular. Já para açúcares redutores, não foi observado influência do consórcio nos teores de açúcares nas folhas como também no caule.

**Tabela 1-** Atividade enzimática, Invertase total e Açúcares redutores total de folhas e Caule do *Stylosanthes* no período do outono.

<i>Stylosanthes</i>	Solteiro	Consórcio	Média	CV (%)	Contraste* (P)
					3
<b>FOLHA</b>					
<b>IAPC</b>	97,55	44,92	71,24	14,70	< 0001*
<b>IAV</b>	123,71	161,99	142,85	22,51	0,0412*
<b>INC</b>	90,02	80,03	85,02	13,02	0,1046
<b>INV. TOTAL</b>	311,28	286,93	299,10	11,75	0,1993
<b>AÇÚCAR REDUTOR</b>	384,57	421,86	388,67	11,85	0,0748
<b>CAULE</b>					
<b>IAPC</b>	71,19	42,53	56,86	18,48	0,0004*
<b>IAV</b>	123,91	102,74	113,32	21,50	0,1163
<b>INC</b>	69,19	68,29	68,74	23,27	0,9129
<b>INV. TOTAL</b>	264,28	213,55	238,92	14,17	0,0151*
<b>AÇÚCAR REDUTOR</b>	365,69	411,65	387,63	11,73	0,1530

\* $\alpha=0,05$  de probabilidade de erro tipo I. 3: contraste entre plantas solteiras e consorciadas. P = valor de probabilidade; IAPC - invertase ácida da parede celular; IAV - invertase ácida do vacúolo; INC - invertase neutra do citosol; INV. TOTAL - invertase total.

Não foi observada influência do nitrogênio na atividade da invertase ácida da parede celular nas folhas de *Stylosanthes* para nenhum dos sistemas de cultivos durante a primavera ( $P>0,05$ ). Ao mesmo tempo, a atividade da invertase ácida da parede celular foi maior em caules de plantas solteiras de *Stylosanthes*, alcançando valor 2,5 vezes maior que na consorciada (Figura 6 A e B).

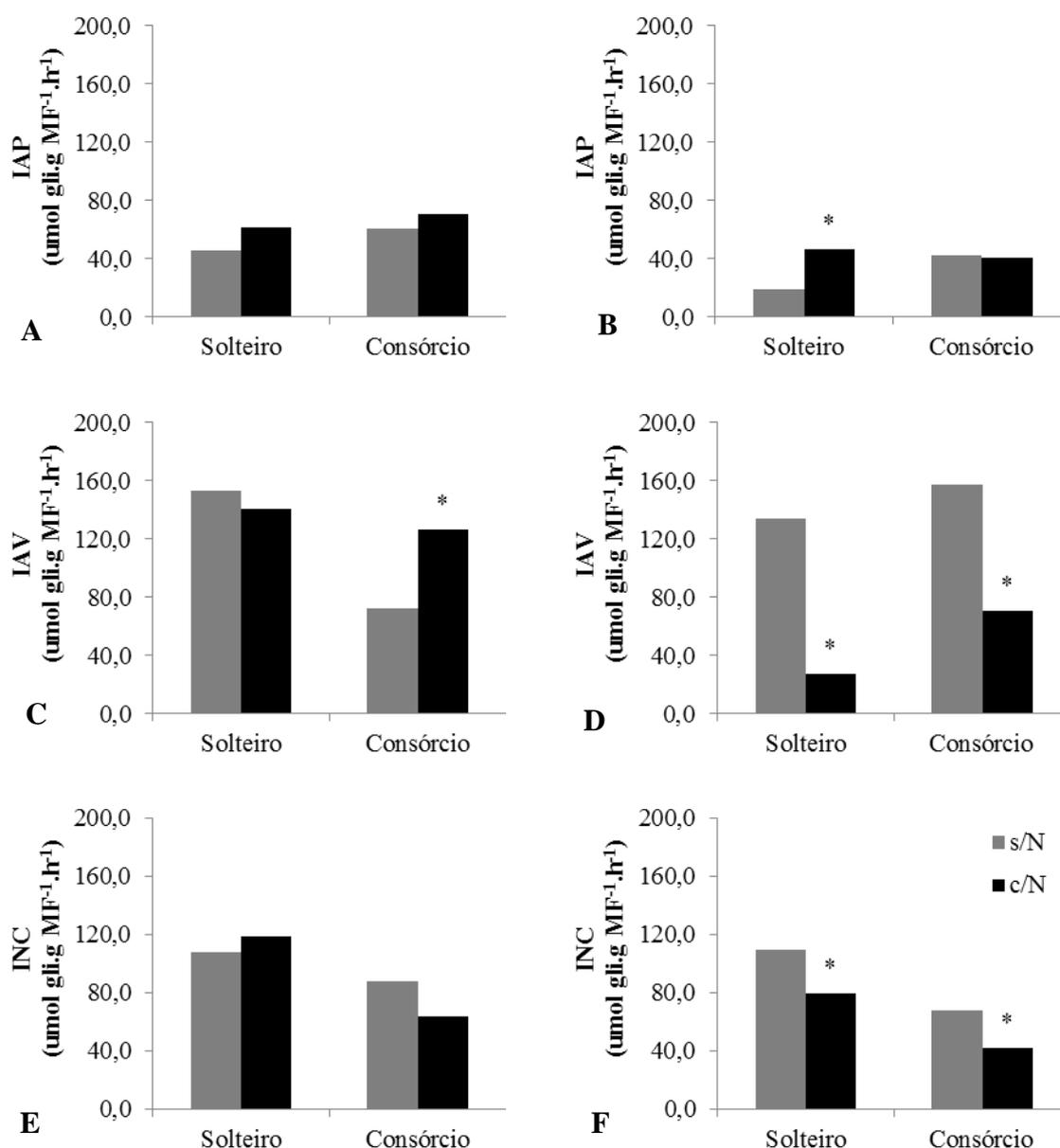


Figura 6. Atividade da invertase ácida da parede celular (IAP) (A e B), invertase ácida do vacúolo (IAV) (C e D) e invertase neutra do citosol (INC) (E e F) em folhas (A, C e E) e caules (B, D e F) de *Stylosanthes* Campo Grande cultivado solteiro ou em consórcio, na ausência (s/N) ou presença de nitrogênio (c/N), no período da primavera. \* Significativo a  $\alpha=0,05$  de probabilidade de erro tipo I. 1: contrastes entre plantas solteiras com ou sem adubação nitrogenada; 2: contrastes entre plantas consorciadas com ou sem adubação nitrogenada.

Para as invertases ácidas do vacúolo, a influência do nitrogênio nas folhas de *Stylosanthes* ocorreu apenas em plantas de cultivo consorciado, nas quais foram encontrados os maiores valores (Figura 5 C). Diferentemente, no caule, a presença de nitrogênio influenciou de forma negativa, independente do sistema de cultivo, reduzindo a atividade dessa enzima (Figura 6 D). Este mesmo comportamento foi

observado para atividade da invertase neutra do citosol nos caules de *Stylosanthes*, enquanto que nas folhas não houve diferença (Figura 6 E e F).

A presença do nitrogênio influenciou ( $P < 0,05$ ) apenas na atividade total das invertases do colmo de *Stylosanthes*, tanto em sistema de cultivo solteiro quanto consorciado com *B. decumbens*, promovendo reduções nessas atividades (Figura 7 B).

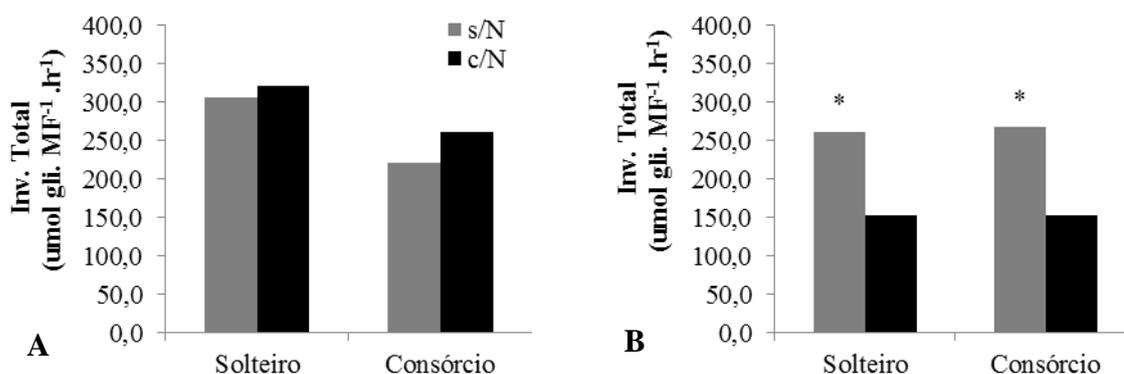


Figura 7-Invertase Total em folhas (A) e caules (B) de *Stylosanthes* cultivado solteiro ou em consórcio, na ausência (s/N) ou presença de nitrogênio (c/N), no período da primavera. \* Significativo a  $\alpha=0,05$  de probabilidade de erro tipo I. 1: contrastes entre plantas solteiras com ou sem adubação nitrogenada; 2: contrastes entre plantas consorciadas com ou sem adubação nitrogenada.

No período da primavera, o nitrogênio influenciou ( $P < 0,05$ ) significativamente em um aumento, em torno de 20%, nos teores de açúcares redutores de folhas e caules, tanto para as plantas de *Stylosanthes* em sistema de cultivo solteiro quanto consorciado (Figura 8 A e B).

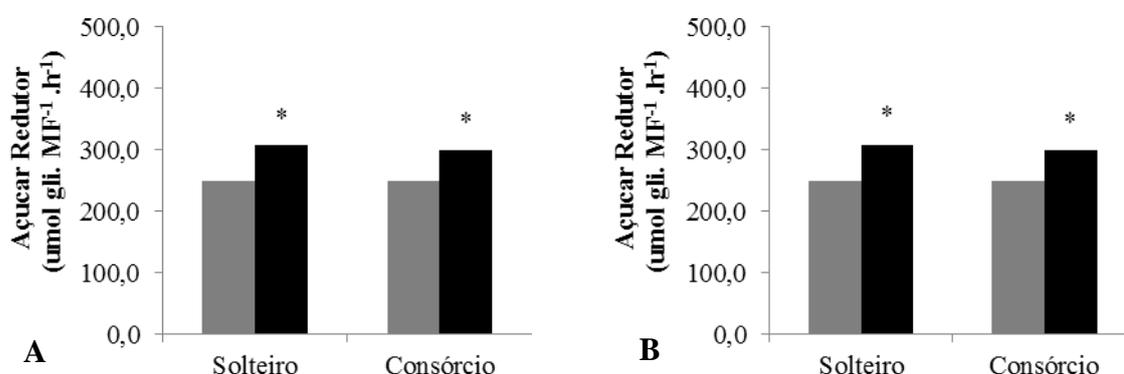


Figura 8- Açúcar redutor em folhas (A) e caules (B) de *Stylosanthes* cultivado solteiro ou em consórcio, na ausência (s/N) ou presença de nitrogênio (c/N), no período da primavera. \* Significativo a  $\alpha=0,05$  de probabilidade de erro tipo I. 1: contrastes entre plantas solteiras com ou sem adubação nitrogenada; 2: contrastes entre plantas consorciadas com ou sem adubação nitrogenada

Comparando o efeito do consórcio sobre as plantas no período da primavera, foi possível observar que o consórcio não influenciou ( $P>0,05$ ) nas atividades da invertase ácida da parede celular na folha e da invertase ácida do vacúolo no caule de *Stylosanthes*. No entanto, para atividade ácida do vacúolo nas folhas e para a INC em folhas e caules, o consórcio influenciou em uma redução da atividade, assim como aumentou a atividade da invertase ácida da parede celular em caules (Tabela 2).

**Tabela 2** - Atividade enzimática, Invertase total e Açúcares redutores total de folhas e Caule do *Stylosanthes* no período da primavera.

<i>Stylosanthes</i>	Solteiro	Consórcio	Média	CV (%)	Contraste* (P)
					<b>3</b>
<b>FOLHA</b>					
<b>IAPC</b>	53,69	65,40	59,54	36,62	0,3109
<b>IAV</b>	146,83	99,42	123,12	16,49	0,0012*
<b>INC</b>	113,59	75,78	94,68	17,43	0,0013*
<b>INV. TOTAL</b>	314,11	240,59	277,35	9,94	0,0005*
<b>AÇÚCAR REDUTOR</b>	291,64	373,62	332,63	10,65	0,0012*
<b>CAULE</b>					
<b>IAPC</b>	32,38	41,12	36,75	5,87	0,0155*
<b>IAV</b>	80,25	113,73	96,99	42,62	0,1397
<b>INC</b>	94,62	54,82	74,72	14,24	<.0001*
<b>INV. TOTAL</b>	207,25	209,68	208,47	17,24	0,8955
<b>AÇÚCAR REDUTOR</b>	278,0	274,75	276,37	9,98	0,8187

\* $\alpha=0,05$  de probabilidade de erro tipo I. 3: contraste entre plantas solteiras e consorciadas. P = valor de probabilidade; IAPC - invertase ácida da parede celular; IAV - invertase ácida do vacúolo; INC - invertase neutra do citosol; INV. TOTAL - invertase total.

Nas folhas, essas alterações refletiram em menor atividade total das invertases em função do consórcio, enquanto que, nos caules, não houve diferença. Apesar de apresentarem menores valores para as invertases ácido do vacúolo e neutra do citosol em folhas, foram verificados maiores teores de açúcar redutor em função do consórcio (Tabela 2). Dessa forma, a maior concentração de açúcar redutor pode ser devido à ação

de outras enzimas, que promovem a clivagem da sacarose, como a sintase da sacarose (KOCH, 2004) ou pela clivagem do amido por amilases (KELLER et al., 1993). Neste caso, como houve menor precipitação no período, a utilização de carboidratos de reserva se faz necessária (ALBACETE et al., 2011). Por outro lado, o consórcio não influenciou os teores de açúcares redutores nos caules.

Em folhas de *Brachiaria decumbens*, o nitrogênio promoveu um aumento significativo na atividade da invertase ácida da parede celular em plantas solteiras e uma redução em plantas consorciadas (Figura 9 A). Redução na atividade dessa enzima foi observada também em caules de plantas solteiras, não sendo significativo naquelas consorciadas (Figura 9 B).

Para a invertase ácida do vacúolo (Figura 9 C e D), não houve influência do nitrogênio na atividade da enzima nas folhas de *Brachiaria decumbens*, independente do sistema de cultivo. No entanto, para os caules, houve aumento nas plantas do cultivo solteiro e redução nas consorciadas. Para a invertase neutra do citosol, foi possível observar que o nitrogênio influenciou apenas a atividades das folhas de plantas que estavam em sistema consorciado (Figura 9 E). O mesmo não ocorreu nos caules, onde o nitrogênio influenciou na atividade tanto das plantas de sistema de cultivos solteiro como também das plantas consorciadas, promovendo redução e aumento, respectivamente (Figura 9 E e F).

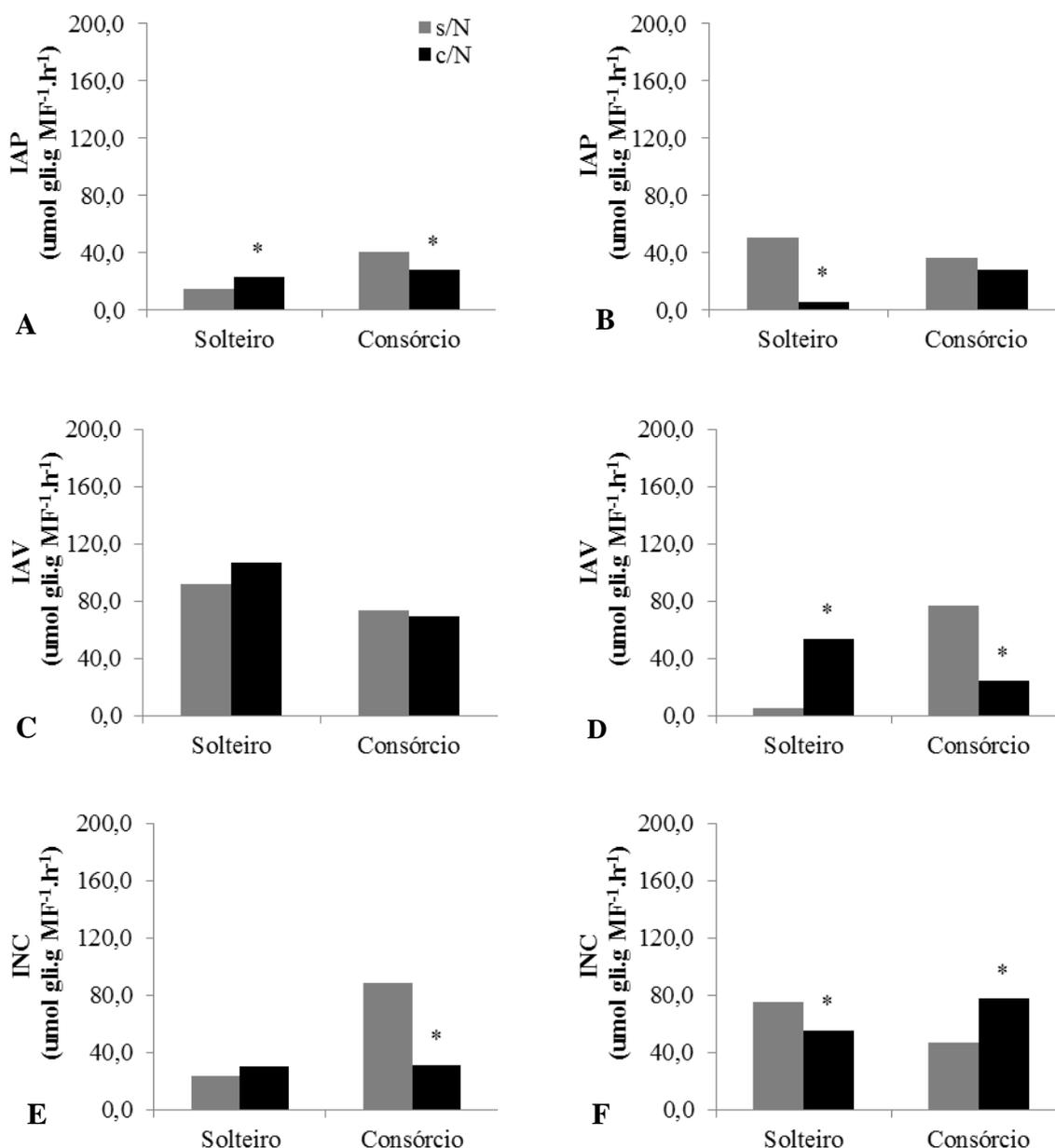


Figura 9. Atividade da invertase ácida da parede celular (IAP) (A e B), invertase ácida do vacúolo (IAV) (C e D) e invertase neutra do citosol (INC) (E e F) em folhas (A, C e E) e caules (B, D e F) de *Brachiaria decumbens* cultivado solteiro ou em consórcio, na ausência (s/N) ou presença de nitrogênio (c/N), no período do outono. \* Significativo a  $\alpha=0,05$  de probabilidade de erro tipo I. 1: contrastes entre plantas solteiras com ou sem adubação nitrogenada; 2: contrastes entre plantas consorciadas com ou sem adubação nitrogenada.

Analisando a atividade total das invertases da *Brachiaria decumbens*, no período de outono, verificou-se que houve uma redução tanto em folhas quanto em caules das plantas em sistema de cultivo consorciado com *Stylosanthes* (Figura 10 A e B). Ao mesmo tempo, em plantas solteiras, não foi observada nenhuma influência do nitrogênio para a invertase total ( $P>0,05$ ). Da mesma forma que para o *Stylosanthes*, o comportamento das invertases em folhas e colmos de *Brachiaria* não parece ter um

padrão em função do nitrogênio. Embora, o nitrogênio tenha influenciado em maior atividade total dessas enzimas, somente nas plantas em consórcio, o que provavelmente foi resultado da invertase ácida da parede celular e invertase neutra do citosol nas folhas e da invertase ácida do vacúolo nos caules, essas mesmas enzimas apresentaram-se com aumento ou nenhum efeito significativo nas plantas solteiras.

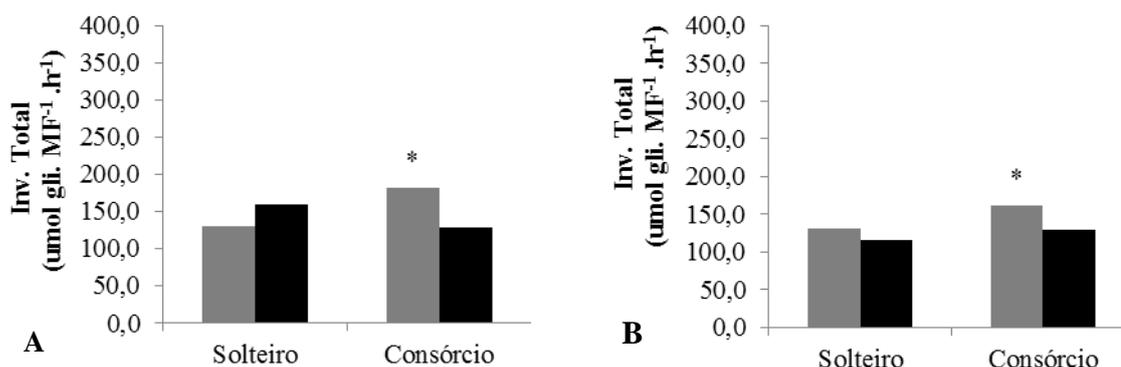


Figura10 - Invertase total de folhas e colmo do *Brachiaria decumbens*, no período do outono.

Mesmo com a redução da atividade total das invertases, os teores de açúcares redutores não apresentaram diferenças em função da presença de nitrogênio nas plantas consorciadas, sendo maiores somente nas folhas de *Brachiaria decumbens* em cultivo solteiro (Figura 11).

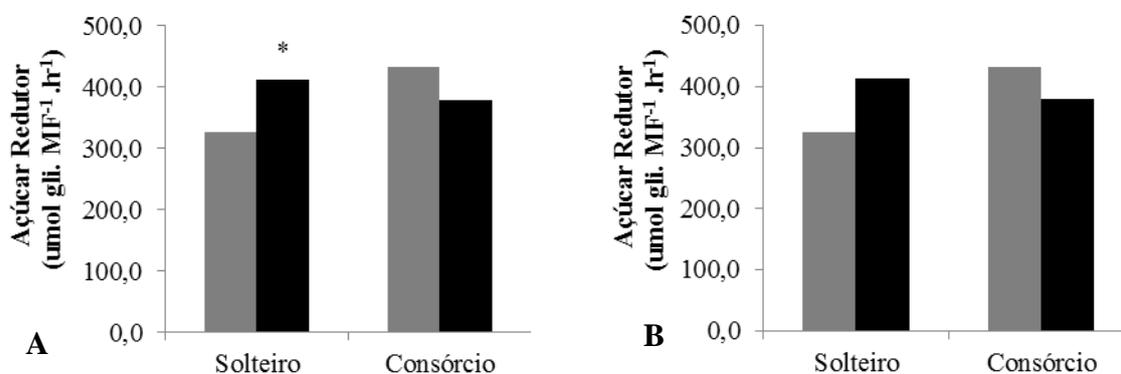


Figura 11- Teores de açúcar redutor de folhas e colmos de *Brachiaria decumbens*, no período do outono.

Em folhas de *Brachiaria decumbens*, durante o outono, o consórcio influenciou significativamente no aumento da invertase ácida da parede celular e da invertase neutra do citosol e na redução da atividade da invertase ácida do vacúolo. Em contrapartida, nos caules, somente a invertase ácida do vacúolo foi influenciada pelo consórcio, apresentando maiores valores (Tabela 3).

**Tabela 3** - Atividade enzimática, Invertase total e Açúcares redutores total de folhas e Caule da *Brachiaria decumbens* no período do outono.

<i>B. decumbens</i>	Solteiro	Consórcio	Média	CV (%)	Contraste* (P)
					3
<b>FOLHA</b>					
<b>IAPC</b>	18,75	34,23	26,49	12,08	<.0001*
<b>IAV</b>	99,61	71,59	85,60	17,72	0,0050*
<b>INC</b>	26,88	60,40	43,64	14,40	<.0001*
<b>INV. TOTAL (F)</b>	145,25	155,08	150,16	18,01	0,4855
<b>AÇÚCAR REDUTOR</b>	345,14	425,61	385,37	29,79	0,0027*
<b>CAULE</b>					
<b>IAPC</b>	28,04	32,43	30,24	18,71	0,1555
<b>IAV</b>	29,90	51,01	40,45	11,89	<.0001*
<b>INC</b>	65,72	62,26	63,99	8,74	0,2476
<b>INV. TOTAL (C)</b>	123,67	145,69	134,68	7,91	0,0025*
<b>AÇÚCAR REDUTOR</b>	369,05	405,62	387,33	21,55	0,2948

\* $\alpha=0,05$  de probabilidade de erro tipo I. 3: contraste entre plantas solteiras e consorciadas. P = valor de probabilidade; IAPC - invertase ácida da parede celular; IAV - invertase ácida do vacúolo; INC - invertase neutra do citosol; INV. TOTAL - invertase total.

O consórcio influenciou ( $P<0,05$ ) em um aumento da invertase total no caule de *Brachiaria decumbens* no período do outono, o que não foi significativo nas folhas (Tabela 3). O contrário ocorreu para os teores de açúcares redutores, nos quais se observou um aumento significativo nas folhas e não significativos nos caule (Tabela 3). Esse aumento nos teores de açúcares redutores indica que o consórcio pode ter proporcionado à planta uma maior produção de fotoassimilados, suprindo o

metabolismo energético. De acordo com Hammond & Whiter (2008), as plantas utilizam os açúcares como substrato e a biossíntese de carboidratos para suprir a demanda metabólica, dessa forma, favorecendo o crescimento e desenvolvimento dos órgãos dreno, assegurando a sobrevivência das plantas diante das possíveis adversidades climáticas.

Na *Brachiaria decumbens*, durante a primavera, a presença do nitrogênio influenciou um aumento significativo na atividade da invertase ácida da parede celular nas folhas em sistema de cultivo solteiro e redução no sistema consorciado com *Stylosanthes* (Figura 12 A). No caule houve redução na atividade dessa enzima nas plantas de cultivo solteiro (Figura 11 B).

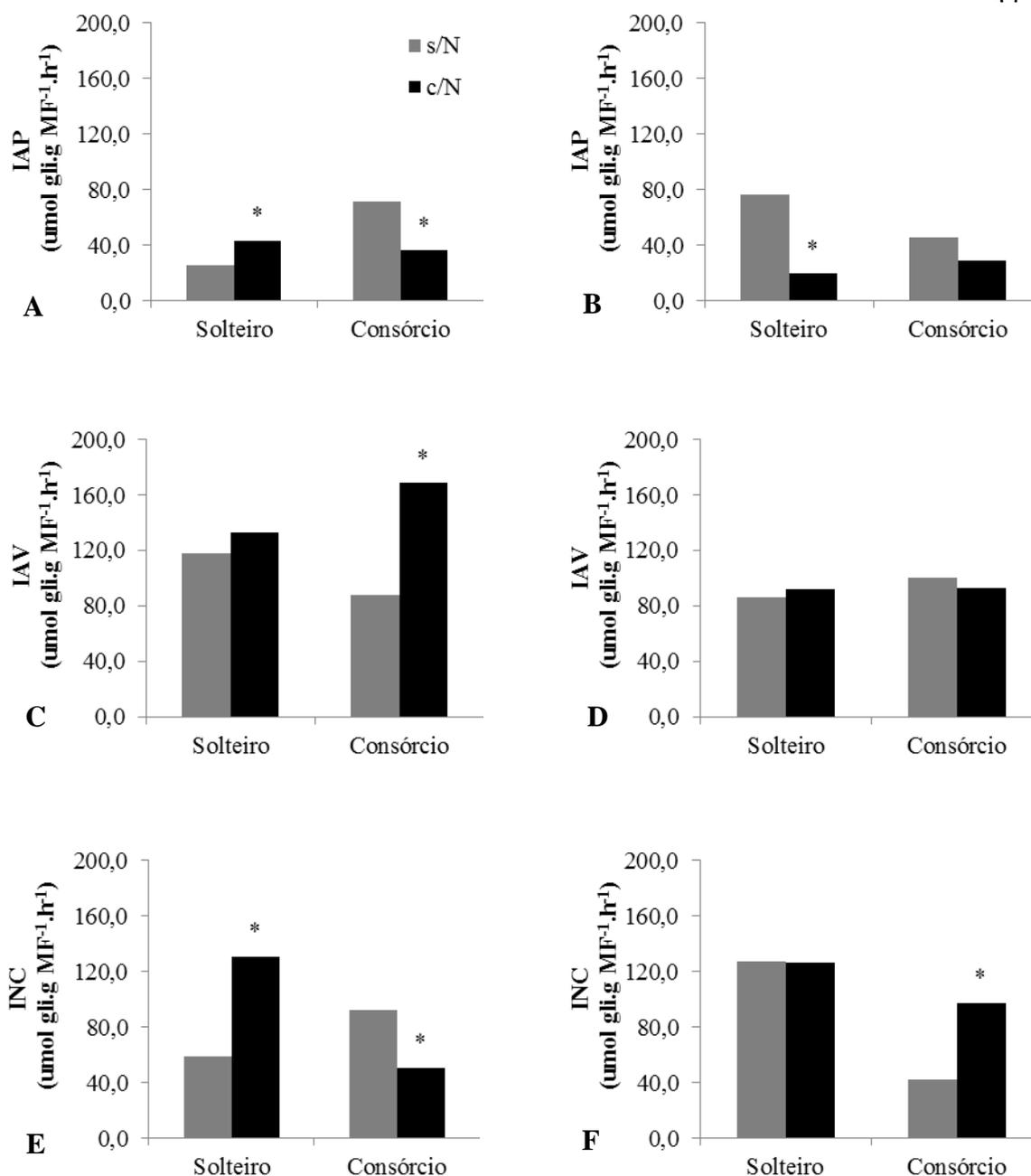


Figura 12. Atividade da invertase ácida da parede celular (IAP) (A e B), invertase ácida do vacúolo (IAV) (C e D) e invertase neutra do citosol (INC) (E e F) em folhas (A, C e E) e caules (B, D e F) de *Brachiaria decumbens* cultivado solteiro ou em consórcio, na ausência (s/N) ou presença de nitrogênio (c/N), no período da primavera. \* Significativo a  $\alpha=0,05$  de probabilidade de erro tipo I. 1: contrastes entre plantas solteiras com ou sem adubação nitrogenada; 2: contrastes entre plantas consorciadas com ou sem adubação nitrogenada.

Houve um aumento na atividade da invertase ácida do vacúolo apenas nas folhas das plantas em sistema de consórcio, em função do nitrogênio (Figura 12 C e D). Por outro lado, em folhas de *Brachiaria decumbens* em sistema de cultivo solteiro, o nitrogênio aumentou a atividade da invertase neutra do citosol e reduziu, quando o

cultivo foi consorciado (Figura 12 E). No entanto, para os caules, o nitrogênio apenas influenciou a atividade em plantas de *Stylosanthes*, que estavam sendo cultivadas em consórcio (Figura 12 F).

Para atividade total das invertases na *Brachiaria decumbens*, no período da primavera, o nitrogênio influenciou em um aumento significativo na atividade das folhas de plantas em sistema de cultivo solteiro, o mesmo resultado não foi observado para as folhas de plantas em sistema de cultivo consorciado, como também para caule de nenhum sistema de cultivo (Figura 13 A e B).

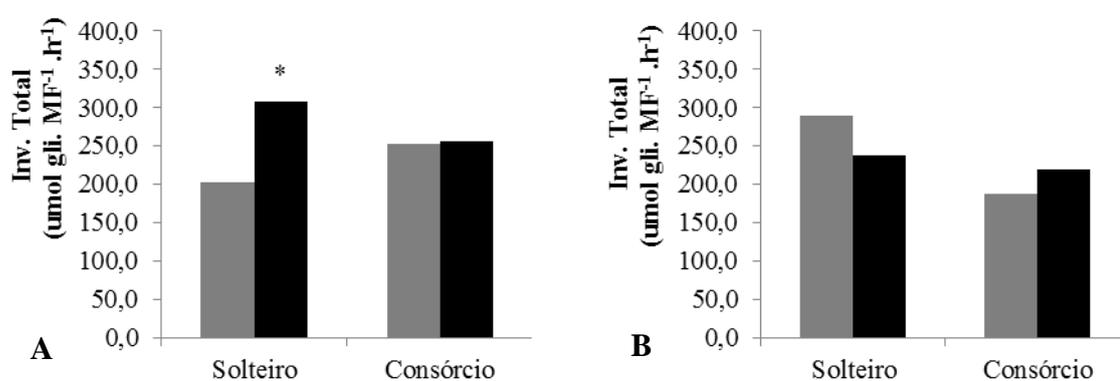


Figura 13- Invertase total de folhas e colmo do *Brachiaria decumbens*, no período da primavera.

Os teores de açúcares redutores de folhas e caules da *Brachiaria decumbens* não foram influenciados pelo nitrogênio em nenhum sistema de cultivo (Figura 14 A e B).

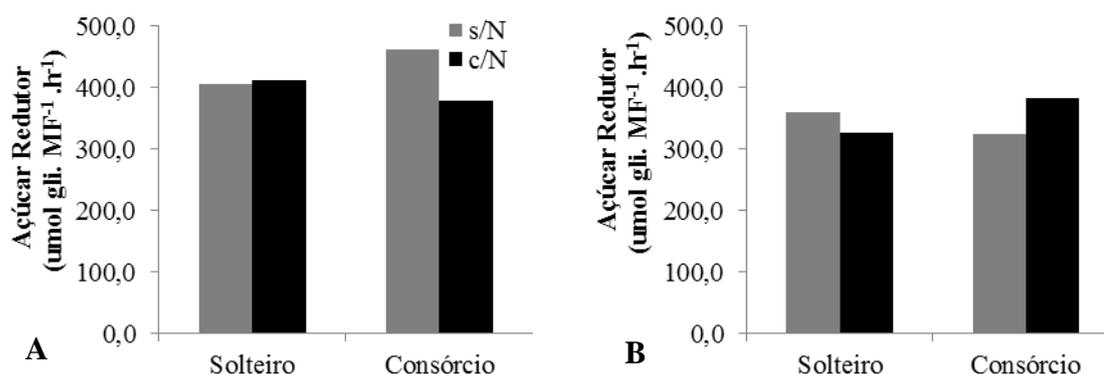


Figura 14- Teores de açúcar redutor de folhas e colmos de *Brachiaria decumbens*, no período da primavera.

Em folhas de *Brachiaria decumbens*, no período da primavera, o consórcio influenciou ( $P < 0,05$ ) significativamente em um aumento na atividade da invertase ácida

da parede celular das folhas e uma redução na atividade da invertase neutra do citosol, tanto para folha como para o caule, este resultado também pode ser observado para a invertase total do caule, no qual ocorreu a mesma redução por influência do consórcio (Tabela 4), no entanto, para as variáveis, invertase ácida da parede celular (caule), invertase ácida do vacúolo (folha e caule), invertase total da folha, açúcar redutor (folha e caule), não foram observados efeitos do consórcio.

A atividade das invertases está diretamente relacionada ao conteúdo de açúcares redutores nos diferentes órgãos da planta, nas diferentes estações do ano. Com isso, o aumento ou diminuição na atividade dessas enzimas reflete no aumento ou redução do conteúdo de açúcares redutores, respectivamente. Assim, a atividade de invertases nas folhas é importante no metabolismo de carboidratos, por regular os níveis de sacarose no citosol e ampliar informações sobre o suprimento de carbono e regulação do transporte de sacarose via simplasto ou apoplasto (DANTAS et al., 2005).

**Tabela 4** - Atividade enzimática, Invertase total e Açúcares redutores total de folhas e Caule do *Brachiaria decumbens* no período da primavera.

<i>B. decumbens</i>	Solteiro	Consórcio	Média	CV (%)	Contraste* (P)
					3
<b>FOLHA</b>					
<b>IAPC</b>	34,65	53,78	44,21	25,49	0,0079*
<b>IAV</b>	125,28	128,57	126,93	29,28	0,8664
<b>INC</b>	94,81	71,62	83,22	23,65	0,0429*
<b>INV. TOTAL</b>	254,74	253,98	254,36	16,48	0,9717
<b>AÇÚCAR REDUTOR</b>	434,23	487,13	460,67	17,45	0,2208
<b>CAULE</b>					
<b>IAPC</b>	47,89	37,03	42,79	29,79	0,1202
<b>IAV</b>	88,97	96,76	92,87	21,55	0,4563
<b>INC</b>	126,67	69,65	98,16	31,83	0,0053*
<b>INV. TOTAL</b>	263,53	203,45	233,49	16,52	0,0124*
<b>AÇÚCAR REDUTOR</b>	487,13	353,91	348,43	13,57	0,6547

\* $\alpha=0,05$  de probabilidade de erro tipo I. 3: contraste entre plantas solteiras e consorciadas. P = valor de probabilidade; IAPC - invertase ácida da parede celular; IAV - invertase ácida do vacúolo; INC - invertase neutra do citosol; INV. TOTAL - invertase total.

Invertases extracelulares são caracterizadas por um pH ótimo muito baixo, sendo, por isso, ionicamente ligadas à parede celular e responsáveis pela descarga no floema, em tecidos em crescimento (ROITSCH et al., 2003). Ao contrário dessa classe, as invertases vacuolares são solúveis e caracterizadas por apresentarem um pH ótimo ácido, sendo responsáveis por regular os níveis vacuolares de sacarose (OHYAMA et al., 1995). As invertases citosólicas, por sua vez, possuem o pH ótimo neutro ou alcalino e atua na manutenção do nível de sacarose no citoplasma (RICHARDO et al., 1970).

Diante do exposto, as hexoses (glicose e frutose), bem como os teores de sacarose e atividade das enzimas de hidrólise de carboidratos, são influenciadas por mudanças sazonais e fenológicas experimentadas pelas plantas. Além disso, a expressão de genes das invertases e a atividades dessas enzimas são diretamente influenciadas por

uma variedade e fatores intracelulares e extracelulares, tais como condições ambientais, mudanças hormonais nas plantas e estágio de desenvolvimento do vegetal.

Esses fatores supracitados evidenciam a divergência na atividade das invertases durante as diferentes estações do ano, bem como sob a presença ou não de fontes nitrogenadas, fato importante, uma vez que o nitrogênio é componente principal da estrutura das enzimas, já que estas são proteínas, que, por sua vez, são constituídos por cadeias de aminoácidos (HUNTER et al., 1994; PALLIOTTI & CARTECHINI, 2001; TYMOWSKA-LALANNE & KREIS, 1998; ROITSCH et al., 2000, 2003).

## 5.2 AVALIAÇÕES MORFOGÊNICAS E PRODUÇÃO

Para a análise da produção total de massa seca total de *Estilosante* Campo Grande e *Brachiaria decumbens* na produção dos consórcios entre as duas espécies, não foi observado efeito ( $P < 0,05$ ) para a produção de massa seca total no período do outono, no entanto, no período da primavera, foi observado que o consórcio proporcionou um aumento significativo na produção de matéria seca entre os consórcios sem adubação nitrogenada (Tabela 5).

Esses resultados demonstram que, no período da primavera, a adubação nitrogenada não apresentou eficiência produtiva, confirmando, assim, os benefícios advindos do uso da técnica do consórcio entre gramíneas e leguminosas, haja vista que a fixação biológica se mostrou eficiente diante do nível de adubação utilizado no presente estudo. Segundo Thomas (1992), as leguminosas forrageiras podem contribuir com grandes quantidades de nitrogênio ao sistema, favorecendo, assim, o desenvolvimento das espécies de gramíneas.

**Tabela 5** - Produção massa seca total de *Stylosanthes* cv. Campo Grande e *Brachiaria decumbens* na produção dos consórcios entre as duas espécies, com ou sem adubação nitrogenada, durante as estações do ano (outono e primavera).

Variáveis	Consórcio/Solteiro	Consórcio/Solteiro	Média	CV (%)	Contrastes* (P)
	0N	50N			
<b>OUTONO</b>					
PMStotal (kg/ha <sup>-1</sup> )	3269,6	3761,0	3515,3	19,0	0,375
<b>PRIMAVERA</b>					
PMStotal (kg/ha <sup>-1</sup> )	2051,7	1519,0	1785,4	4,6	0,003*

\* $\alpha = 0,05$  de probabilidade de erro tipo I. 1: contrastes entre plantas consorciadas com ou sem adubação nitrogenada; P = valor de probabilidade; PMStotal - Produção massa seca total.

Para a produção de matéria seca de folhas, caule e matéria seca total da leguminosa, no outono, houve efeito significativo ( $P < 0,05$ ) do nitrogênio (Tabela 6), na qual o *Estilosantes* solteiro apresentou maior produção do que quando adubado com 50kg de N, pois o nitrogênio potencializa o metabolismo das plantas, a respeito da utilização dos carboidratos disponíveis, aumentando, assim, a emissão de matéria seca (ALEXANDRINO et al., 2004).

**Tabela 6** - Efeito do consórcio e adubação nitrogenada na produção do *Stylosanthes* Campo Grande, nas estações do ano (outono e primavera).

	Solteiro	Solteiro	Consórcio	Consórcio	Média	CV (%)	Contrastes* (P)		
	0N	50N	0N	50N			1	2	3
<b>OUTONO</b>									
<b>Produção (kg/ha)</b>									
PMSfolha	574,5	1395,2	500,2	373,4	710,8	43,5	0,005	0,576	0,006
PMScaule	492,3	975,2	342,3	283,6	523,4	44,5	0,017	0,730	0,006
PMSinflorescência	398,5	556,3	249,3	126,7	330,4	43,5	0,136	0,259	0,003
PMStotal	1456,3	2926,5	1091,8	783,7	1564,6	40,3	0,009	0,507	0,003
FC	1,2	1,5	1,5	1,4	1,4	14,9	0,137	0,417	0,357
<b>PRIMAVERA</b>									
PMSfolha	436,0	734,3	485,8	207,9	466,0	36,1	0,033	0,044	0,020
PMScaule	320,4	581,9	430,4	149,9	370,7	35,1	0,019	0,014	0,035
PMSinflorescência	9,4	7,8	7,7	3,5	7,1	161,5	0,847	0,622	0,612
PMStotal	765,8	1323,9	923,8	361,4	843,7	35,5	0,027	0,026	0,025
FC	1,4	1,3	1,1	1,4	1,3	9,1	0,285	0,006	0,515

\* $\alpha=0,05$  de probabilidade de erro tipo I. 1: contrastes entre plantas em monocultivo com ou sem adubação nitrogenada; 2: contrastes entre plantas consorciadas com ou sem adubação nitrogenada; 3: contraste entre plantas em monocultivo e consorciadas. P - valor de probabilidade; PMSfolha - produção de matéria seca da folha; PMScaule - produção de matéria seca do caule; PMSinflorescência - produção de matéria seca da inflorescência; PMStotal - produção de matéria seca total; FC - relação folha caule.

Já no período da primavera, as produções de massa seca de folha, de caule, de matéria seca total e relação folha/caule apresentaram efeito significativo ( $P<0,05$ ) do nitrogênio. Com exceção da relação folha/caule, as demais variáveis apresentaram melhor desempenho no consórcio que não recebeu adubação nitrogenada. A menor produção de matéria seca de folha, caule e matéria seca total no consórcio que recebeu a adubação nitrogenada ocorreu devido ao nitrogênio ter aumentado a capacidade de crescimento da *Brachiaria decumbens*, aumentando, assim, a competição entre as espécies, o que culminou na menor produção do *Stylosanthes*. No entanto, a relação folha/caule, no consórcio com adubação nitrogenada, foi maior; este resultado ocorreu devido ao menor crescimento das plantas, consequentemente, menor produção de colmo.

A produção de massa seca de folha, caule, inflorescência e total apresentou efeito significativo ( $P<0,05$ ) do consórcio no outono. Já na primavera, apenas as variáveis produção de matéria seca de folha, caule e matéria seca total apresentaram efeitos para esse contraste, sendo os melhores resultados registrados para o cultivo solteiro (Tabela 6). Isso porque no cultivo solteiro foi utilizado um menor espaçamento entre linhas, o que permitiu um maior número de plantas por área e, consequentemente, uma maior produção. No sistema consorciado, a menor produção de matéria seca se

deve pela presença da braquiária na área, ocupando, juntamente com a leguminosa, a mesma área dela solteira.

**Tabela 7** - Efeito do consórcio e adubação nitrogenada na produção da *Brachiaria*, nas estações do ano (outono e primavera).

	Solteiro	Solteiro	Consórcio	Consórcio	Média	CV (%)	Contrastes* (P)		
	0N	50N	0N	50N			1	2	3
<b>OUTONO</b>									
<b>Produção (kg/ha)</b>									
PMSfolha	1103,8	1608,2	1120,8	1523,2	1339,0	14,3	0,005	0,015	0,730
PMScaule	999,2	1261,6	743,8	986,7	997,8	32,6	0,284	0,318	0,138
PMSinflorescência	468,9	559,2	313,2	467,3	452,2	29,0	0,355	0,131	0,092
PMStotal	2571,9	3428,9	2177,8	2977,2	2788,9	20,5	0,063	0,079	0,173
FC	1,2	1,4	1,5	1,7	1,5	25,4	0,643	0,396	0,099
<b>PRIMAVERA</b>									
PMSfolha	787,9	844,3	666,5	655,8	738,6	16,2	0,522	0,902	0,029
PMScaule	478,6	505,7	420,1	431,0	458,8	18,8	0,668	0,863	0,157
PMSinflorescência	57,0	65,6	41,3	70,9	58,7	76,9	0,793	0,378	0,822
PMStotal	1323,5	1415,6	1127,9	1157,7	1256,2	17,8	0,575	0,855	0,073
FC	1,7	1,7	1,6	1,5	1,6	6,2	0,863	0,331	0,043

\* $\alpha=0,05$  de probabilidade de erro tipo I. 1: contrastes entre plantas em monocultivo com ou sem adubação nitrogenada; 2: contrastes entre plantas consorciadas com ou sem adubação nitrogenada; 3: contraste entre plantas em monocultivo e consorciadas. P = valor de probabilidade; PMSfolha - produção de matéria seca da folha; PMScaule - produção de matéria seca do caule; PMSinflorescência - produção de matéria seca da inflorescência; PMStotal - produção de matéria seca total; FC - relação folha caule.

A *Brachiaria decumbens*, no período outono, apresentou efeito significativo ( $P<0,05$ ) para os contrastes 1 e 2, para as variáveis produção de matéria seca de folha e produção de matéria seca total. Independente do sistema de cultivo avaliado (solteiro/consórcio), a *B. decumbens* apresentou uma maior produção para essas variáveis, quando recebeu a adubação nitrogenada, este fato pode ser devido ao nitrogênio favorecer o crescimento (tabela 7).

Houve efeito significativo ( $P<0,05$ ) no período de outono para as variáveis produção de matéria seca de inflorescência e relação folha/caule no contraste 3. Para a inflorescência, essa resposta se deu devido ao sistema de cultivo solteiro permitir um maior número de plantas por área. Já para a relação folha/caule, essa maior relação possivelmente pode ser em detrimento da maior produção de matéria seca do caule produzido no sistema solteiro, mesmo não demonstrando efeito significativo (Tabela 7).

Na primavera, as variáveis produção de matéria seca de folha, produção de matéria seca total e relação folha/caule da *Brachiaria decumbens* apresentaram efeito significativo para o contraste 3, com maior produção de folhas, o que levou,

consequentemente, a uma maior produção de matéria seca total e maior relação folha/caule, quando cultivadas solteira (Tabela 7). Da mesma forma que para o *Stylosanthes*, a presença de duas plantas na mesma área promove menor produção individual.

De acordo com Aroeira et al. (2006), este fato pode ter ocorrido devido à competição entre as espécies por água, luz e nutrientes, em geral, e entre plantas das diferentes espécies. A *Brachiaria decumbens*, por ser uma planta de maior eficiência fotossintética (ciclo C4) em condições tropicais e de melhor adaptação às condições de solo de baixa fertilidade e topografia declivosa, é considerada mais competitiva do que a leguminosa (ciclo C3).

O *Stylosanthes* campo grande, no outono, não apresentou efeito significativo ( $P>0,05$ ) para as suas características morfogênicas e estruturais (Tabela 8). Por outro lado, na primavera, apresentou efeito positivo para o consórcio (contraste 3) nas variáveis, número de folhas vivas, taxa de aparecimento de folhas e filocrono, sendo que o sistema consorciado apresentou maior número de folhas vivas e taxa de aparecimento de folha e menor filocrono (Tabela 8). Resultado este, ocorrido possivelmente devido à maior disponibilidade de nitrogênio no consórcio. Segundo Martuscello et al. (2011), seja o nitrogênio oriundo da adubação química ou da fixação biológica, o mesmo diminui o tempo necessário para a expansão das folhas, consequentemente, reduzindo o tempo de aparecimento de uma folha para outra.

As características da taxa de alongamento de folha e comprimento final de folha do Estilosante, na primavera, apresentaram efeito do nitrogênio ( $P<0,05$ ) nas plantas solteiras e consorciadas, e a largura final do folíolo apresentou efeito significativo somente para as plantas solteiras, nas quais as melhores respostas foram encontradas para as plantas submetidas à adubação. Este efeito é devido à ação do nitrogênio como promotor de crescimento, como já mencionados anteriormente (Tabela 8). O comprimento final do folíolo ainda apresentou efeito para o contraste 3, sendo o maior crescimento registrado para as plantas solteiras.

O comprimento final do caule do *Stylosanthes* na primavera apresentou efeito para o contraste 2, sendo o maior comprimento para o consórcio que não recebeu a adubação nitrogenada (Tabela 8). E a taxa de alongamento do caule apresentou efeito para o contraste 3, como maior alongamento para as plantas consorciadas; esse maior alongamento pode ser um mecanismo da planta de tentar expor a sua área foliar em um

local melhor iluminado do dossel, o número de ramificação secundárias apresentou efeito para os contrastes 1 e 2, com maior número de ramificações para as plantas que não receberam adubação nitrogenada (Tabela 8).

**Tabela 8** - Efeito do consórcio e adubação nitrogenada no crescimento do *Stylosanthes* campo grande, nas estações do ano (outono e primavera).

	Solteiro	Solteiro	Consórcio	Consórcio	Média	CV (%)	Contrastes* (P)		
	0N	50N	0N	50N			1	2	3
<b>OUTONO</b>									
<b>Análise de crescimento</b>									
NFV/ramo	4,8	4,0	5,0	4,7	4,6	17,9	0,199	0,616	0,299
TApF (folha/dia)	0,15	0,13	0,16	0,15	0,15	16,7	0,231	0,679	0,257
Filocrono(dia/folha)	7,4	8,7	6,8	7,1	7,5	18,6	0,220	0,749	0,153
TAIF (cm/dia)	0,09	0,10	0,09	0,10	0,10	11,3	0,364	0,144	0,662
LFF (cm)	1,2	1,3	1,2	1,3	1,2	11,2	0,282	0,211	0,411
CFF (cm)	2,9	3,1	2,8	3,2	3,0	12,6	0,508	0,199	0,928
CP (cm)	0,6	0,7	0,6	0,7	0,6	13,8	0,373	0,138	0,933
CFC (cm)	29,9	33,4	34,0	35,5	33,2	19,5	0,455	0,755	0,367
TAIC (cm/dia)	0,25	0,41	0,41	0,39	0,4	45,0	0,217	0,917	0,395
NRsec	2,3	3,0	2,9	2,6	2,7	49,2	0,467	0,752	0,882
Altura (cm)	26,8	31,4	31,1	36,0	31,3	21,7	0,364	0,329	0,227
<b>PRIMAVERA</b>									
NFV/ramo	3,3	3,2	3,5	3,5	3,4	7,2	0,703	0,854	0,069
TApF (folha/dia)	0,11	0,10	0,11	0,11	0,11	6,5	0,347	0,631	0,036
Filocrono(dia/folha)	11,5	10,4	9,5	9,4	10,2	13,0	0,250	0,843	0,050
TAIF (cm/dia)	0,07	0,08	0,07	0,08	0,07	4,6	0,013	0,069	0,485
LFF (cm)	0,8	0,9	0,8	0,8	0,8	8,9	0,068	1,000	0,838
CFF (cm)	2,2	2,4	2,1	2,3	2,3	3,6	0,008	0,008	0,082
CP (cm)	0,4	0,5	0,4	0,5	0,5	9,6	0,198	0,120	0,736
CFC (cm)	23,0	24,6	25,8	21,9	23,8	10,3	0,391	0,049	0,973
TAIC (cm/dia)	0,11	0,12	0,14	0,13	0,13	17,8	0,295	0,447	0,074
NRsec	1,8	1,1	1,7	1,3	1,4	26,17	0,035	0,052	0,863
Altura (cm)	24,1	22,7	24,6	23,4	23,7	12,0	0,530	0,548	0,692

\* $\alpha=0,05$  de probabilidade de erro tipo I. 1: contrastes entre plantas em monocultivo com ou sem adubação nitrogenada; 2: contrastes entre plantas consorciadas com ou sem adubação nitrogenada; 3: contraste entre plantas em monocultivo e consorciadas. P = valor de probabilidade; NFV - número de folhas vivas; TApF - taxa de aparecimento foliar; TAIF - taxa de alongamento de folha; LFF - largura de folha final; CFF - comprimento de folha final; CP - comprimento do pecíolo; CFC - comprimento final de caule; TAIC - taxa de alongamento de caule; NRsec - número de ramos senescentes.

As características número de folhas vivas, taxa de alongamento de folha e comprimento final de folhas no outono apresentaram efeito significativo ( $P<0,05$ ) para o contraste 3 e, na primavera, a taxa de alongamento de folha, largura final de folha e comprimento final de folha também apresentaram efeito significativo para o mesmo contraste, no qual as plantas que estavam em sistema de cultivo de consórcio apresentaram os melhores resultados. O sistema consorciado pode ter proporcionado uma maior disponibilidade de nutrientes, dentre estes, o nitrogênio. Segundo Spain & Vilela (1990), as leguminosas têm a capacidade de fixar biologicamente 50 kg/ha/ano de nitrogênio, beneficiando, dessa maneira, o crescimento das plantas (Tabela 9).

**Tabela 9** - Efeito do consórcio e adubação nitrogenada no crescimento da *Brachiaria decumbens*, nas estações do ano (outono e primavera).

	Solteiro	Solteiro	Consórcio	Consórcio	Média	CV (%)	Contrastes* (P)		
	0N	50N	0N	50N			1	2	3
<b>OUTONO</b>									
<b>Análise de crescimento</b>									
NFV/perfilho	2,9	2,6	3,1	3,1	2,9	12,5	0,354	0,849	0,085
TApF(folha/dia)	0,09	0,08	0,10	0,10	0,09	15,4	0,485	1,000	0,157
Filocrono(dia/folha)	11,1	12,5	10,6	10,3	11,1	14,8	0,253	0,828	0,134
TAIF (cm/dia)	0,57	0,64	0,71	0,73	0,66	12,7	0,236	0,743	0,022
LFF (cm)	1,4	1,3	1,5	1,5	1,4	17,2	0,796	0,931	0,271
CFF (cm)	17,5	19,7	21,5	22,6	20,3	12,7	0,263	0,582	0,024
CFC (cm)	30,9	24,9	31,6	31,6	29,7	19,1	0,173	0,995	0,226
TAIC (cm/dia)	0,43	0,25	0,36	0,30	0,33	41,4	0,089	0,552	0,888
Altura (cm)	45,2	43,7	47,1	44,9	45,3	10,4	0,672	0,526	0,524
<b>PRIMAVERA</b>									
NFV/perfilho	2,6	2,6	2,3	2,5	2,48	7,3	1,000	0,189	0,026
TApF(folha/dia)	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	11,8	0,716	0,716	0,609
Filocrono(dia/folha)	13,2	12,5	13,4	13,3	13,12	10,0	0,492	0,892	0,464
TAIF (cm/dia)	0,46	0,46	0,54	0,53	0,50	10,4	0,790	1,000	0,017
LFF (cm)	1,1	1,0	1,4	1,1	1,1	17,3	0,848	0,149	0,088
CFF (cm)	14,2	14,4	16,7	16,6	15,5	10,2	0,827	0,935	0,015
CFC (cm)	22,2	22,7	23,9	22,1	22,7	8,7	0,767	0,245	0,597
TAIC (cm/dia)	0,16	0,20	0,17	0,14	0,17	15,3	0,084	0,162	0,235
Altura (cm)	21,5	22,9	23,5	22,7	22,6	6,4	0,195	0,447	0,256

\* $\alpha=0,05$  de probabilidade de erro tipo I. 1: contrastes entre plantas em monocultivo com ou sem adubação nitrogenada; 2: contrastes entre plantas consorciadas com ou sem adubação nitrogenada; 3: contraste entre plantas em monocultivo e consorciadas. P = valor de probabilidade; NFV - número de folhas vivas; TApF - taxa de aparecimento foliar; TAIF - taxa de alongamento de folha; LFF - largura de folha final; CFF - comprimento de folha final; CP - comprimento do pecíolo; CFC - comprimento final de caule; TAIC - taxa de alongamento de caule; NRsec - número de ramos senescentes.

Pode-se observar também que, no período do outono, a *Brachiaria decumbens* também apresentou efeito significativo ( $P<0,05$ ) no contraste 1 para a taxa de alongamento de colmo, na qual o maior alongamento ocorreu no sistema de cultivo sem adubação nitrogenada. Para a mesma característica, na primavera, também houve efeito significativo para o contraste 1, entretanto, a maior taxa de alongamento ocorreu para as plantas que receberam adubação nitrogenada (Tabela 9).

O número de folhas vivas da *Brachiaria decumbens* na primavera apresentou efeito para o contraste 3, sendo o maior número de folhas vivas registrados para o sistema solteiro (Tabela 9).

Fagundes et al. (2006), avaliando o *Capim-Brachiaria* adubado com nitrogênio, observaram que a taxa de alongamento foliar, o comprimento final da folha, o índice de área foliar e as porcentagens de colmo e de lâmina foliar de *Brachiaria decumbens* sob

pastejo aumentam linearmente, enquanto a porcentagem de material morto decresce com as doses de nitrogênio

## VI – CONSIDERAÇÕES FINAIS

As enzimas, em plantas de *Stylosanthes* e *Brachiaria decumbens*, não apresentaram um padrão de resposta de suas atividades em função da adubação nitrogenada ou da utilização da técnica do uso do consórcio ou não;

Por outro lado, o uso do consórcio de *Stylosanthes* e *Brachiaria decumbens* se mostrou eficiente quanto à produção. A presença do nitrogênio pode favorecer o crescimento de ambas as plantas e, na quantidade utilizada, provavelmente, não trazem prejuízos à leguminosa;

Aliado aos dados de crescimento, o estudo feito com as enzimas demonstra, de uma maneira geral, que as mesmas não têm prejuízos em função do nitrogênio ou do consórcio, tendo suas atividades mantidas, principalmente, a atividade total, quando uma invertase pode compensar a atividade da outra;

Dessa forma, serão necessários estudos futuros para poder elucidar essas informações, pois, na literatura, não há trabalhos de estudo do metabolismo em função da adubação nitrogenada ou consórcios com a utilização destas forragens. Em trabalhos com essas enzimas, relacionados a estresses ambientais, alguns autores relatam que a atuação dessas enzimas pode variar em função de qualquer fator.

## VII – REFERÊNCIAS

ALEXANDRINO, E., Nascimento Júnior, D., Mosquim, P.R., Regazzi, A.J. e Rocha, F.C. 2004. Características morfogênicas e estruturais na rebrotação da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetida a três doses de nitrogênio. **Rev Bras Zootecn**, 33: 1372-1379.

ALBACETE, A.; GROSSKINSKY, DK; ROITSCH, T. Trick and Treat: A Review on the Function and Regulation of Plant Invertases in the Abiotic Stress Response. **Phyton-Annales REI BOTANICAE**, v.50 p.181, 2011.

AYRE, B. G. Membrane-transport systems for sucrose in relation to whole-plant carbon partitioning. **Molecular Plant**, Oxford, v. 4, p. 377–394, May 2011.

ABREU, J.B.R. **Níveis de nitrogênio e proporção de nitrato e amônio afetando produção, atividade de redutase do nitrato e composição de três gramíneas forrageiras**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1994. 109 f. Dissertação de Mestrado.

AGUIAR, A. P. A.; SILVA, A. M. Calagem e adubação da pastagem. In: **SIMPÓSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS**, 5., 2005, Lavras. Temas em evidência. Lavras: UFLA, 2005, p. 177-246.

ALEXANDRINO, E.; NASCIMENTO JR., D.; REGAZZI, A. Características morfogênicas e estruturais da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetida a diferentes doses de nitrogênio e frequências de cortes. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.27, p.17-24, 2005.

ANDRADE, R.P.; KARIA, C.T. O uso de *Stylosanthes* em pastagens no Brasil. In: **SIMPÓSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGEM**, 1., 2000, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2000, p.273-309.

AROEIRA, L.J.M.; PACIULLO, D.S.C.; LOPES, F.C.F.; MORENZ, M.J.F.; SALIBA, E.S.; SILVA, J.J.; DUCATTI, C. Disponibilidade, composição bromatológica e consumo de matéria seca em pastagem consorciada de *Brachiaria decumbens* com *Stylosanthes guianensis*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.40, n.4, p.413-418, abr. 2005.

ARTUR, Adriana Guirado; GARCEZ, Tiago Barreto; MONTEIRO, Francisco Antonio. Eficiência do uso da água pelo capim-marandu em função de doses de nitrogênio e enxofre. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 45, n. 1, p. 10-17, 2013.

ARAÚJO FILHO, J.A. de. Avaliação de leguminosas arbóreas, para recuperação de solos e repovoamento em áreas degradadas, Quixeramobim-CE. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.2, n.2, 2007.

BARCELLOS, A. O. et al. 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**, Lavras, v. 37, p. 51-67, 2008. Suplemento.

BERTONI, J; LOMBARDI NETO, F. Conservação do Solo, **7ª Edição, Editora Ícone**. São Paulo, SP. 2008, 355p.

BONFIM-SILVA, E. M.; MONTEIRO, F. A. Nitrogênio e enxofre em características produtivas do capim-braquiária proveniente de área de pastagem em degradação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 35, n. 4, p. 1289-1297, jul./ago. 2006.

BONFIM-DA-SILVA, E.M. **Nitrogênio e enxofre na recuperação de capim-braquiária em degradação em neossolo quartzarênico com expressiva matéria orgânica**. 2005. 123 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

MARSCHNER, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants, 2nd Edn. **Academic Press**, London, 889 p.

BOUCHÉ-PILLON, S. et al. Immunolocalization of the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase in minor veins of *Vicia faba* in relation to phloem loading. **Plant Physiology**, Rockville, v. 105, p. 691-697, June 1994.

CAI, J. et al. Alteration of nutrient allocation and transporter genes expression in rice under N, P, K, and Mg deficiencies. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 34, p. 939–946, May 2012.

CAZETTA, J. O.; SEEBAUER, J. R.; BELOW, F. E. Sucrose and nitrogen supplies regulate growth of maize kernels. **Annals of Botany**, London, v. 84, n. 6, p. 747-754, 1999.

COSTA, N.L; TOWNSEND, C.R.; MAGALHÃES, J.A.; PAULINO, V.T.; PEREIRA, R.G.A. Formação e manejo de pastagens na Amazônia do Brasil. **Revista Electrónica de Veterinária REDVET**, Andaluzia, v.7, n.1, p.9-30. 2006.

CRUZ, Simério Carlos Silva et al. Consórcio de milho e *Brachiaria decumbens* em diferentes preparos de solo. **Acta Scientiarum. Agronomy**. 2009, vol. 31, n. 4, p. 633-639. DOI: 10.4025.

DANTAS, B. F.; RIBEIRO, L. S.; SILVA, A. P.; LUZ, S. R. S. **Foliar carbohydrates content and invertase activity in vines at São Francisco River Valley-Brazil**. Rev. Bras. Frutic. vol.27 no.2 Jaboticabal Aug. 2005.

EMBRAPA – EMBRAPA GADO DE CORTE. **Cultivo e uso do estilosantes-campo-grande**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2007. 11p. (Comunicado Técnico, 105).

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA E AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. [2007]. **Cultivo e uso do estilosantes-campo-grande.** Disponível em: <<http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/cot/pdf/Cot105.pdf>> Acesso em: 17/11/2014.

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Produção de bovinos em pastagens de *Brachiaria* spp. Consorciadas com *Calopogonium mucunoides* nos Cerrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, p.238-245, 1998.

FAGUNDES, Jailson Lara et al. Características morfogênicas e estruturais do capim-braquiária em pastagem adubada com nitrogênio avaliadas nas quatro estações do ano. **R. Bras. Zootec.** [online]. 2006, vol.35, n.1, pp. 21-29. ISSN 1806-9290.

FERRAZ, J. V. Dados preliminares do IBGE confirmam precisões do Instituto FNP. **Anualpec**. p. 16 – 21. 2008.

FRIES, D. D. **Comportamento de  $\alpha$  amilase/invertases e mudanças anatômicas associadas ao cálcio exógeno no período de germinação e/ou alagamento de plântulas do milho (*Zea mays* L.) “Saracura” – BRS-4154.** Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-graduação em Agronomia), Universidade Federal de Lavras, 49 p., 2003.

GAMA, T.C.M; VOLPE, E.; LEMPP, B.; GALDEIA, E.C. Recuperação de pasto de capim-braquiária com correção e adubação de solo e estabelecimento de leguminosas. **Rev. bras. saúde prod. anim.**[online]. 2013, vol.14, n.4, pp. 635-647. ISSN 1519-9940.

GRANO, F. G.; HEINRICH, R.; GUIMARÃES, F. B.; SILVA, V. R.; MACHADO, C. P.; RODRIGUES, B. S.; BARBOSA, M. F. C. Doses de nitrogênio e enxofre na produção de *Brachiaria decumbens*. In: **REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA**, 42., 2005, Goiânia. Anais... Goiânia: SBZ, 2005.

GOMES JÚNIOR, P., M.F. PAULINO, E. DETMANN, S.C. VALADARES FILHO E K.S. KABEYA. 2001. Avaliação qualitativa de três métodos de amostragem da dieta em pastagens de capim braquiária (*Brachiaria decumbens*). In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38., 2001, Piracicaba. Anais... **Sociedade Brasileira de Zootecnia**. Piracicaba-SP. 1135-1136.

GOMIDE, J. A. Morfogênese e análise de crescimento de gramíneas tropicais. In: Simpósio internacional sobre produção animal em pastejo. Viçosa, 1997. **Anais...** Viçosa, 1997. p.411-430.

HAMMOND, J. P.; WHITE, P. J. Sucrose transport in the phloem: integrating root responses to phosphorus starvation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 59, n. 1, p. 93-109, 2008.

HUNTER, JJ; SKRIVAN, R. ; RUFFNER, HP diurnas e sazonais mudanças nas folhas da *Vitis vinifera* L: CO<sub>2</sub> taxas de assimilação, os níveis de açúcar e atividade enzimática sucrolitic. **Vitis**, Siebeldingen, v.33, p. 189-195, 1994.

KARIA, C. T.; ANDRADE, R. P. de; CHARCHAR, M. J. D.; GOMES, A. C. Características morfológicas de acessos do gênero *Stylosanthes* no banco ativo de germoplasma da Embrapa Cerrados – coleção 1994/1995. Planaltina, DF. Embrapa Cerrado. 2002. 24 p. (**Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento** 72).

Keller, F. & Pharr, D.M. Metabolism of carbohydrates in sinks and sources. Galactosyl-Sucrose. Pp.157-184. In: **Photoassimilate distribution in plants and crops: source-sink relationships**. New York, Marcel Dekker, Inc. 1996.

KELLER F.; LUDLOW MM. Carbohydrates metabolism in drought-stressed leaves of pigeonpea (*Cajanuscajan* L.). *Journal of Experimental Botany*, v.44, p.1351–1359, 1993.

KOCH, K. E. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 7, n. 3, p. 235-246, June 2004.

LEITE, G. H. P.; Crusciol, C. A. C.; Lima, G. P. P.; Silva, M. A. Reguladores vegetais e atividade de invertases em cana-de-açúcar em meio de safra. **Ciência Rural**, v.39, n.3, mai-jun, 2009.

LEMAIRE, G.; AGNUSDEI, M. Leaf tissue turn-over and efficiency of herbage utilization. In: **GRASSLAND ECOPHYSIOLOGY AND GRAZING ECOLOGY**, 1999, Curitiba. Proceedings... Curitiba: 1999. p.134-150.

LEWIS, D.H. Storage carbohydrates in vascular plants: distribution, physiology and metabolism. **London, Cambridge University**. 1984.

LIMA, J.A; PINTO, J.C.; EVANGELISTA, A.R. et al. Amendoim forrageiro (*Arachis pintoi* Krapov. & Greg). 2003.

LINS, T.O.J.A. **Morfogênese e interceptação luminosa em capim-tanzânia consorciado com estilosantes Campo Grande ou adubado com nitrogênio sob pastejo**. 2011. 48f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2011.

LOPES, J.; EVANGELISTA, A.R.; PINTO, J.C. et al. Doses de fósforo no estabelecimento de capim-xaraés e Estilosantes Mineirão em consórcio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.12, p.2658-2665, 2011.

MACHARIA, P.N.; KINYAMARIO, J.I.; EKAYAT, W.N.; GACHENE, C.K.K.; MUREITHI, J.G. Evaluation of forage legumes for introduction into natural pastures of semi-arid rangelands of Kenya. **Grass and Forage Science**, v.65, p.456–462, 2010.

MACEDO, M.C.M. Recuperação de áreas degradadas: pastagens e cultivos intensivos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DO SOLO, 7, Goiânia, 1993. **Anais...** Goiânia: SBSC, 1993. p.71-72.

MACEDO, M.C.M.; ZIMMER, A.H. Sistema pasto-lavoura e seus efeitos na produtividade agropecuária. In Favoretto, V.; Rodrigues, L.R.A.; Reis, R.A. (eds.). SIMPÓSIO SOBRE ECOSSISTEMAS DE PASTAGENS, 2, 1993, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, UNESP, 1993. p.216-245.

MAGALHÃES, R.T.; CORRÊA, D.S. Degradabilidade in situ da matéria seca e fração fibrosa do estilosantes Campo Grande. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.64, n.3, p.702-710, 2012.

MALAVOLTA, E.; VITI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: **Associação Brasileira para Pesquisa de Potássio e do fósforo**, 1997. 319 p.

MARSCHNER, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants, 2nd Edn. **Academic Press, London**, 889 p.

MARTUSCELLO, J.A.; OLIVEIRA, A.B. de; CUNHA, D. de N.F.V. da; AMORIM, P.L. de; DANTAS, P.A.L.; LIMA, D. de A. Produção de biomassa e morfogênese do capim-braquiária cultivado sob doses de nitrogênio ou consorciado com leguminosas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.12, n.4, p.923-934, 2011.

MEIRA, A.S.; LEÃO, J.L.; SANTOS, J.M. **O uso e a ocupação do solo e a formação de voçorocas no município de Caetité – BA**. Universidade Estadual da Bahia, BA, 2004.

MILES, J.W.; LASCANO, C.E. Status of Stylosanthes development in other countries. I. Stylosanthes development and utilization in South America. **Tropical Grasslands, Brisbane**, v.31, p.454-459, 1997.

MINSON, D. J. Forage in ruminant nutrition. **New York: Academic**, 1990.

MONTEIRO, F.A., WERNER, J.C. Efeitos da adubação nitrogenada e fosfatada em capim- colônia, na formação e em pasto estabelecido. **B. Ind. st. anim.**, Nova Odessa, v.34, n.1, p. 91-101, 1977.

MORO, Edemar; CRUSCIOL, Carlos Alexandre Costa; CANTARELLA, Heitor and NASCENTE, Adriano Stephan. Upland rice under no-tillage preceded by crops for soil cover and nitrogen fertilization. **Rev. Bras. Ciênc. Solo** [online]. 2013, vol.37, n.6, pp. 1669-1677. ISSN 0100-0683.

NASCIMENTO Júnior D. & Adese B. 2004. Acúmulo de biomassa na pastagem. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 2, 2004, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, p.289- 330.

OHYAMA, A .; ITO, H .; SATO, T .; Nishimura, S .; IMAI, T .; HIRAI, M. Supressão de atividade invertase ácida por RNA antisense modifica a composição de açúcar de tomate. **Vegetal e Fisiologia Celular**, Kamikyo-Ku, v.36, p. 369-376. De 1995.

OLIVEIRA, R. L.; BARBOSA, M. A. A. F.; LADEIRA, M. M.; SILVA, M. M. P.; ZIVIANI, A. C.; BAGALDO, A. R.. Nutrição e manejo de bovinos de corte na fase de cria. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, 7 (1): 57-86, 2006.

PACIULLO, D.S.C.; AROEIRA, L.J.M.; CARVALHO, C.A.B.; MORENZ, M.J.F. Taxa de acúmulo de forragem de *Stylosanthes guianensis* em pastagem consorciada. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria, RS. Anais. Santa Maria: **Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 2003.

PALLIOTTI, A .; Cartechini, A. mudanças de desenvolvimento na atividade de troca gasosa em flores, frutos e tendrils de adulto campo Cabernet Sauvignon. **americana Journal of Enologia e Viticultura** , Davis, V.54, n. 4, p.317-323, 2001.

PARIS, W.; CECATO, U.; MARTINS, E.N.; LIMÃO, V.A.; OLIVEIRA, E. Estrutura e valor nutritivo da pastagem de Coastcross consorciada com *Arachis pintoi*, com e sem adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal** [online], v.10 n. 3, p. 513-524, 2009.

PITELLI R. A. E M. C. M. D. PAVANI. 2005. Feralidade vegetal e transgeniase. **Bio Tecnologia Ciência e Desenvolvimento** 34: 1-100.2005.

RIBEIRO, O.L. **Características morfogênicas, produtivas e desempenho animal em capim – tanzânia adubado ou consorciado com estilosantes em lotação contínua**. 2010. 93f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2010.

RICHARDO, CPP; Rees, atividade T. Invertase durante o desenvolvimento de raízes de cenoura. **Fitoquímica** , Oxford, v.9, p.239-247. 1970,

ROITSCH, T.; EHNEß, R.; GOETZ, M.; HOUSE, B.; HOFMANN, M. SINHA, A.K. Regulation and function of extracellular invertase from higher plants in relation to assimilate partitioning, stress response and sugar signalling. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.27, p. 815-825, 2000.

ROITSCH, T.; GONZÁLEZ, M. Function and regulation of plant invertases: sweet sensations. **Trends in Plant Science**, London, v. 9, n. 12, p. 606-613, Dec. 2004.

ROITSCH, T .; BALIBREA, ME; HOFMANN, M .; PROELS, R .; Sinha, AK invertases extracelulares:. Enzima metabólica e proteína metabólica **Journal of Experimental Botany**, Oxford, V.54, n.382, p. 513-524, 2003.

SALES, Rita Manuele Porto et al. **Nitrogen fertilization on the establishment of *Arachis pintoi* cv. Belmonte**. *R. Bras. Zootec.* [online]. 2012, vol.41, n.11, pp. 2303-2308. ISSN 1806-9290.

SANTOS, Manoel Eduardo Rozalino et al. Capim-braquiária diferido e adubado com Nitrogênio : Produção e Funcionalidades da forragem . **R. Bras. Zootec.** [online]. 2009, vol.38, n.4, pp. 650-656. ISSN 1806-9290.

SANTOS, M. E. R.; FONSECA, D. M.; BALBINO, E. M. Capim-braquiária diferido e adubado com nitrogênio: produção e características da forragem, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.4, p.650-656, 2009.

SANTOS, M. O. Dissertação. Mestrado em Agronomia (Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras. **Efeito do anelamento do caule sobre as relações fonte-dreno em plantas de *Inga vera* Willd.** 2009.

SILVA, M.P. Estilosantes – **Stylosanthes spp. Fauna e Flora do Cerrado**, Campo Grande, Junho 2004. Disponível em: <<http://www.cnpqc.embrapa.br/~rodiney/series/flora/estilo/estilosantes.htm>>. Acesso em: <15, Dezembro, 2014>.

SILVA, R. R. Poaceae (Gramineae) da ARIE – **Santuário de Vida Silvestre do Riacho Fundo**, Brasília: DF: Universidade de Brasília. 2000. 187 p. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade de Brasília, Brasília.

SOUZA, A.; Moraes, M. G.; Ribeiro, R. C. L. F. Gramíneas do cerrado: carboidratos não-estruturais e aspectos ecofisiológicos. **Acta bot. bras.** 19(1): 81-90. 2005.

SHELTON, H.M.; FRANZEL, S.; PETERS, M. Adoption of tropical legume technology around the world: analysis of success. **Tropical Grasslands**, v. 39, p. 98–209, 2005.

SPAIN, J.M.; VILELA, L. Perspectivas para pastagens consorciadas na América Latina nos anos 90 e futuros. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. PASTAGENS, 1990, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1990. p.87- 105.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. **Fisiologia vegetal**. Universitat Jaume I, 2006.

THOMAS, R. J. The role of the legume in the nitrogen cycle of productive and sustainable pastures. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 47, p. 133-142, 1992.

TYMOWSKA-Lalanne, Z. ; KREIS, M. As invertases plantas:. Fisiologia, bioquímica e biologia molecular avanços na pesquisa botânica, Londres, v.28, p-71-117, 1998.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca - USA: Comstock Publishing Associates - Cornell University Press. 1994. 476 p.

VERZIGNASE, J. R.; FERNANDES, C. D. **Estilosantes Campo-Grande: Situação Atual e Perspectivas**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2002. 3 p. (Comunicado Técnico, nº 70).

VILELA, H. Série **gramínea tropical - gênero brachiaria (*Brachiaria decumbens* - capim)**. Disponível em: [http://www.agronomia.com.br/artigos/artigos\\_gramineas\\_tropicais.htm](http://www.agronomia.com.br/artigos/artigos_gramineas_tropicais.htm) Acesso em: 08 de Dezembro de 2014.

VITOR, C.m.t.; Costa, P.M.; Villela, S.D.J.; Leonel, F.P.; Fernandes, C.F.; Almeida, G.O. CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS DE UMA PASTAGEM DE *Brachiaria decumbens* STAPF CV. BASILISK SOB DOSES DE NITROGÊNIO. **B. Indústr. Anim.**, Nova Odessa, v.71, n.2, p.176-182, 2014.

VOLPE, E.; CARDOSO, S.; ZAGO, V.C.P. Recuperação de pastagem com calagem, adubação e estabelecimento de leguminosas. In: SEMINÁRIO DE AGROECOLOGIA DE MATO GROSSO DO SUL, 2., 2008, Dourados. **Anais...** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2008 v.3, n.2, 2008.

WARD, J. M. et al. Sucrose transport in higher plants. **International Review of Cytology**, New York, v. 178, n. 1, p. 41-71, 1998.

WERNER, J. C.; COLOZZA, M. T.; MONTEIRO, F. A. Adubação de pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 18., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2001. p. 129-156.

YAO, S. et al. Analysis of the rice *SHORT-ROOT5* gene revealed functional diversification of plant neutral/alkaline invertase family. **Plant Science**, Clare, v. 176, n. 5, p. 627-634, May 2009.

ZANINE, A. M.; JUNIOR, G. L. M., Importância do consumo de fibra para a nutrição de ruminantes. **Revista eletrônica de veterinária**. ISSN 1695-7504. V. 7, n. 02. Fevereiro/2006.

ZIMMER, A.H.; MACEDO, M.C.M.; BARCELLOS, A.O.; KICHEL, A.N. Estabelecimento e recuperação de pastagens de *Brachiaria*. In: Peixoto, A.M.; Moura, J.C.; Faria, V.P. (eds.). SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 11, Piracicaba, 1994. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1994. 325p.