

KÁTIA FERNANDA GOBBI

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* E DEGRADAÇÃO
DE TECIDOS FOLIARES DE FENO DE *Brachiaria decumbens* Stapf. TRATADO
COM URÉIA

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das exigências
do Programa de Pós-graduação em
Zootecnia, para obtenção do título de
“Magister Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2004

KÁTIA FERNANDA GOBBI

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* E DEGRADAÇÃO
DE TECIDOS FOLIARES DE FENO DE *Brachiaria decumbens* Stapf. TRATADO
COM URÉIA.

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das exigências
do Programa de Pós-graduação em
Zootecnia, para obtenção do título de
“Magister Scientiae”.

Aprovada: 19 de fevereiro de 2004.

Prof. Odilon Gomes Pereira
(Conselheiro)

Prof^a. Marília Contin Ventrella
(Conselheira)

Prof. Augusto César de Queiroz

Prof. Ricardo Andrade Reis

Prof. Rasmô Garcia
(Orientador)

Aos meus pais e meus irmãos
Aos meus avós
Aos meus tios Ivan e Elaine
Ao Américo, por tudo de bom.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização do curso.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Rasmô Garcia, pela orientação, amizade e disponibilidade durante a realização desse trabalho, todo meu respeito e admiração.

Ao Professor Odilon Gomes Pereira, pelos conselhos, sugestões e amizade.

À Professora Marília Contin Ventrella, pela ajuda valiosa, paciência e amizade.

Aos professores Augusto César Queiroz e Ricardo Andrade Reis pela disponibilidade e pelas sugestões.

Aos amigos Fernando e Daíse pelo apoio e amizade sempre presentes.

Aos amigos Fernanda e Acyr pela disponibilidade e amizade.

À minha irmã Valéria e ao meu amigo Dalton pela amizade, pelas horas de estudo e pelos churrascos.

Aos estudantes e Professores do Laboratório de Anatomia Vegetal, pela recepção, ensinamentos e convivência agradável.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal e do Laboratório de Anatomia Vegetal pelo auxílio na condução das análises laboratoriais.

À Daniela e a Prof^ª. Catarina do laboratório de Micorrizas – BIOAGRO, pela oportunidade de uso do criomicrotomo, pelos ensinamentos e disponibilidade.

Aos bolsistas de Iniciação Científica Rafael e Beatriz, pela amizade e pelo auxílio.

Aos amigos e colegas Ciane, Karina, Camila, Ana Paula, Karla, Samuel (Pelanca), Fernando (Velô), Elenice, Lincoln, Tiago, Dawson, Gelson, Patrícia, Fernanda, Mário, Bruno, Eduardo, Aloísio, pela convivência e pelos bons momentos.

Aos meus primos e “irmãos” Fabiana e Márcio, pelos momentos de alegria.

À minha tia Sirlei, pela ajuda valiosa.

Aos meus avós João e Adélia Palharini, pelo exemplo de vida e por estarem sempre dispostos a ajudar.

Aos meus nonos Ludovico e Angelina Gobbi, saudade para sempre.

Aos meus tios Elaine e Ivan, pela oportunidade da realização de um sonho e pelo exemplo de vida, toda minha gratidão e admiração.

Aos meus pais Lonito e Orilde e aos meus irmãos Fábio e Ronaldo, obrigado por tudo.

Ao Américo, por estar sempre presente mesmo estando longe, pelo exemplo de persistência e superação e por me tornar uma pessoa melhor.

BIOGRAFIA

KÁTIA FERNANDA GOBBI, filha de Lonito Luiz Gobbi e Orilde Maria Gobbi, nasceu em Não-Me-Toque, Rio Grande do Sul, em 03 de março de 1978.

Em maio de 2002, graduou-se em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa.

Em abril de 2002, iniciou o Programa de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Forragicultura e Pastagem, defendendo tese em fevereiro de 2004.

ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
INTRODUÇÃO.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	13
Composição Químico-bromatológica e Digestibilidade <i>In Vitro</i> do Feno de <i>Brachiaria decumbens</i> Stapf. Tratado com Uréia.....	19
Resumo.....	19
Abstract.....	20
Introdução.....	21
Material e Métodos.....	22
Resultados e Discussão.....	24
Conclusões.....	30
Referências Bibliográficas.....	31
Degradação de Tecidos Foliares de Feno de <i>Brachiaria decumbens</i> Stapf. Tratado com Uréia e Submetido à Digestão <i>In Vitro</i>.....	34
Resumo.....	34
Abstract.....	36
Introdução.....	37
Material e Métodos.....	39

Resultados e Discussão.....	42
Conclusões.....	51
Referências Bibliográficas.....	52
CONCLUSÕES GERAIS.....	54

RESUMO

GOBBI, Kátia Fernanda, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2004. **Características químicas, digestibilidade *in vitro* e degradação de tecidos foliares do feno de *Brachiaria decumbens* Stapf. tratado com uréia.** Orientador: Rasmão Garcia. Conselheiros: Odilon Gomes Pereira e Marília Contin Ventrella.

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa com o objetivo de avaliar as características químicas, a digestibilidade *in vitro* e a degradação de tecidos foliares do feno de *Brachiaria decumbens* Stapf. (capim-braquiária) tratado com diferentes níveis de uréia. O feno de capim-braquiária colhido no estágio de pós-florescimento foi tratado com seis níveis de uréia (0, 2, 4, 6, 8 ou 10%) com base na MS. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições. A uréia foi dissolvida em quantidade suficiente de água, para elevar o teor de umidade do feno para 30%. O feno tratado foi armazenado em sacos plásticos (2 kg/saco) vedados, por 35 dias e, após abertura foram coletadas amostras para as análises laboratoriais. Verificou-se que os teores de nitrogênio total (NT) aumentaram linearmente em função dos níveis crescentes de uréia. Os teores de nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) aumentaram em função dos níveis de uréia, enquanto os teores de nitrogênio insolúvel em detergente ácido não foram alterados pelo tratamento com uréia. Os teores de NIDN e NIDA em relação ao nitrogênio total (NIDN/NT e NIDA/NT), reduziram linearmente em função dos níveis de uréia, demonstrando aumento nos teores de nitrogênio disponível. A adição de uréia promoveu redução nos teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e celulose. Os teores de hemicelulose e lignina não foram alterados pelo tratamento com uréia. A digestibilidade “*in vitro*” da matéria seca (DIVMS) aumentou, com efeito quadrático dos níveis

crescentes de uréia, estimando-se digestibilidade máxima de 68,9% para o nível de 7% de uréia. Para a avaliação da degradação dos tecidos foliares utilizou-se o feno tratado com 0, 2, 4 ou 8% de uréia, submetido à diferentes tempos de digestão *in vitro* (0, 6, 12, 24 ou 72 horas), adotando-se um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 5, com três repetições. Coletou-se a primeira folha completamente expandida, contada a partir do ápice do perfilho. Foram retiradas porções de aproximadamente 2mm da região mediana da lâmina foliar. Estes segmentos foram seccionados transversalmente em micrótomo de gelo obtendo-se seções de 20 µm de espessura. As seções foram montadas em fita adesiva dupla-face, previamente aderida à lâmina de microscópio. As lâminas contendo as seções foram colocadas em tubos contendo uma mistura de solução tampão e líquido ruminal na proporção 2:1, submetidas à digestão *in vitro* e retiradas nos tempos pré-estabelecidos. As seções foram então coradas e fotografadas e estimou-se a proporção de cada tecido na seção transversal das lâminas foliares. Verificou-se que o feno tratado com uréia apresentou a menor proporção de tecidos na seção transversal da lâmina foliar, demonstrando que o tratamento foi eficiente em causar a desestruturação da parede celular, facilitando o acesso dos microorganismos ruminais e aumentando a digestão dos tecidos. O feno tratado com 8% de uréia e submetido à 24 ou 72 horas de digestão apresentou a menor proporção de tecidos com parede celular espessa e lignificada como bainha do feixe vascular (BFV) e esclerênquima. O tratamento com uréia também reduziu o tempo necessário para degradação dos tecidos, verificando-se que o feno tratado com uréia e submetido à 12 horas de digestão apresentou a mesma proporção de tecidos remanescentes observada no feno não-tratado e submetido à 24 ou 72 horas de digestão. Os tecidos que apresentaram a menor degradação após a digestão foram epiderme e feixe vascular lignificado, não sofrendo modificações significativas causadas pelo tratamento com uréia ou pelos tempos de digestão.

ABSTRACT

GOBBI, Kátia Fernanda, M.S., Universidade Federal de Viçosa, February, 2004. **Chemical and anatomical characteristics and digestibility of *Brachiaria decumbens* Stapf. hay treated with different levels of urea.** Adviser: Rasmô Garcia. Committee Members: Odilon Gomes Pereira and Marília Contin Ventrella.

The experiment was conducted at the Animal Science Department of the Federal University of Viçosa to evaluate the histo-chemical characteristics and digestibility of *Brachiaria decumbens* Stapf. (Signal grass) hay treated with different urea levels. In the trial, 2kg portions of hay were reconstituted with water to get final forage moisture concentration of 30%, and treated with urea at 0, 2, 4, 6, 8, or 10% of the forage dry matter. A completely randomized design with three replicates was used. The material was stored in plastic bags (2kg/plastic bag) for 35 days, and after plastic bag opening, samples were collected for laboratory analysis. Hay total nitrogen (TN) concentration increased linearly with increasing urea level. The chemical treatment with urea increased neutral detergent insoluble nitrogen (NDIN), whereas acid detergent insoluble nitrogen (ADIN) was not affected. The NDIN/total nitrogen and ADIN/total nitrogen ratios decreased with increasing urea level. The neutral detergent fibre (NDF), acid detergent fibre (ADF) and cellulose contents decreased due to ammoniation with urea. The hemicellulose and lignin contents were not affected with urea treatment. The *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) had a quadratic response to the increasing urea level reaching the maximum digestibility of 68,9% at the 7% urea level. The experiment also evaluated the effects of treatment with urea at 0, 2, 4 or 8% of the forage dry matter on the leaf tissues degradation of Signal grass hay submitted to different times of *in vitro* digestion (0, 6, 12, 24 or 72 hours). A completely randomized design in a 4 x 5 factorial arrangement with three replicates was used. For

histological analysis the tiller first leaf completely expanded was collected and segments (2mm) were cut from the center portions of leaf blades. The segments were sectioned 20µm thick on a criomicrotome and the sections were dropped in a microscope slide mounted with transparent double-stick tape. The slides were transferred to jars with rumen fluid inoculum and then were removed at selected digestion times. The sections were stained, photographed and tissue percentages were estimated. The urea-treated hay seemed the smaller proportion of tissue measured in the transversal section of leaf blades, displayed that urea treatment was efficient in disrupt cell wall structure enhanced microbial degradation. The hay treated with urea 8% and submitted to *in vitro* digestion for 24 or 72 hours showed the smallest proportion of tissues with thick and lignified cell walls like parenchyma bundle sheath (PBS) and sclerenchyma. The urea treatment reduced too the period of time necessary to tissues degradation. The urea-treated hay submitted to *in vitro* digestion for 12 hours showed the same proportion of remaining tissues found to untreated hay submitted to 24 or 72 hours of *in vitro* digestion. The epidermis and lignified vascular tissue showed the smallest degradation after *in vitro* digestion.

INTRODUÇÃO

A maior parte do território brasileiro apresenta condições climáticas definidas por uma estação chuvosa, na qual se concentra 75 a 85% da produção de plantas forrageiras, e uma estação seca que responde por apenas 15 a 25% da produção forrageira anual.

A grande produção das forrageiras no período chuvoso, muitas vezes, é sub-utilizada e parte acaba sendo perdida, enquanto que no período seco do ano ocorre escassez de forragem para alimentação dos rebanhos. No entanto, para que os animais mantenham bons níveis de produção ao longo do ano, faz-se necessário o uso de volumosos de qualidade também no período seco, uma vez que as exigências nutricionais dos animais permanecem as mesmas durante todo ano.

A fenação pode ser uma boa opção para o aproveitamento do excesso de forragem produzido no período chuvoso. No entanto, esta prática encontra como obstáculo adequar o estágio de desenvolvimento ideal da forrageira, ou seja, a produção máxima com elevado valor nutritivo, às condições apropriadas para rápida desidratação do material (Burns, 1978; Seiffert, 1988). Com o intuito de contornar os problemas climáticos que limitam os processos de conservação, muitas vezes, opta-se pelo corte da forrageira no período de outono, quando diminui o risco de chuvas. Entretanto, nessa época do ano, geralmente ocorre queda acentuada no valor nutritivo das gramíneas forrageiras tropicais em decorrência do florescimento (Reis et al., 2002).

Os fenos produzidos a partir de gramíneas de clima tropical, colhidas no estágio de pós-florescimento, bem como as palhadas obtidas após a colheita de grãos de cereais e sementes de gramíneas forrageiras, são alimentos essencialmente energéticos, de baixo teor protéico e mineral, baixa digestibilidade e baixo consumo voluntário.

Apesar de estes produtos serem considerados uma boa alternativa para a alimentação dos rebanhos no período de escassez de forragem, geralmente, eles possuem características que limitam o seu aproveitamento pelos animais, podendo-se citar: elevado conteúdo de parede celular, alto teor de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido, teor elevado de lignina, baixa disponibilidade de compostos nitrogenados e baixa digestibilidade da matéria seca.

Segundo Van Soest et al. (1983), a matéria seca de uma planta forrageira pode ser dividida em duas frações, sendo uma totalmente digestível (conteúdo celular) e outra denominada constituinte da parede celular cuja digestibilidade é variável.

Os animais ruminantes, ao longo de sua evolução, desenvolveram a habilidade de utilizar as plantas como sua única fonte de nutrientes (Hofmann, 1989). Estes animais utilizam a forragem através de uma relação simbiótica com microorganismos capazes de fermentar os polissacarídeos da parede celular. No entanto, a baixa digestibilidade, a alta concentração de parede celular e a lignificação acentuada nas forrageiras colhidas após o florescimento limitam a disponibilidade de energia para os animais que consomem dietas com elevada proporção de forragem (Wilson, 1993).

A parede celular é uma mistura complexa de polissacarídeos e outros polímeros que são produzidos pela célula formando uma estrutura organizada, unidos por ligações covalentes e não covalentes. A parede também contém proteínas estruturais, enzimas, polímeros fenólicos e outras substâncias que modificam as características estruturais da mesma (Taiz & Zeiger, 1998).

Do ponto de vista nutricional, a parede celular é a principal fonte de energia para os ruminantes em todo mundo. Essa compreende 20 a 80% do peso seco de forrageiras e é composta, principalmente, por hemicelulose, pectina, celulose e lignina. Portanto, maximizar o ganho de energia a partir da parede celular é importante para aumentar a eficiência da produção animal (Wilson, 1994).

A parede celular é composta por três camadas distintas. A lamela média, formada por substâncias pécticas, é a camada mais externa e divide as paredes de células contíguas, exercendo uma função cimentante entre as células (Brett & Waldron, 1996). A parede primária, depositada internamente à lamela média, é formada por microfibrilas de celulose embebidas em uma

matriz amorfa composta por polissacarídeos como as hemiceluloses e as pectinas. A parede secundária, interna à parede primária, é constituída por três camadas (S1, S2 e S3), que se distinguem pela diferente orientação das microfibrilas de celulose (Wilson, 1993).

O espessamento da parede celular e a deposição de lignina ocorrem da região da parede primária em direção ao lúmen celular. A concentração de lignina é maior na lamela média e parede primária, mas devido a sua espessura a parede secundária contém a maior parte da lignina presente na planta (Wilson, 1993).

O conteúdo de parede celular (CPC) de uma forrageira é nutricionalmente importante, pois alimentos com alto CPC apresentam menor digestibilidade e menor consumo pelos ruminantes (Minson, 1990). Os tipos de ligações que formam os polissacarídeos, a espessura da parede e a deposição de lignina são fatores que podem aumentar sua resistência e, em consequência, reduzir a disponibilidade de sua energia para os ruminantes (Wilson, 1994).

A lignina, depois da celulose, é a substância orgânica mais importante presente na planta. Esta, é um polímero de fenilpropanóides bastante complexo. O ácido p-cumárico e o ácido ferrúlico são os principais componentes da lignina e podem estabelecer diferentes propriedades a este polímero (Taiz & Zeiger, 1998).

A deposição de lignina reduz a porosidade efetiva da parede primária aumentando sua resistência ao ataque dos microorganismos ruminais. A progressiva retirada da água associada à parede, durante a lignificação, faz com que a parede celular se converta de uma estrutura hidrofílica para uma fortemente hidrofóbica, afetando a capacidade enzimática dos microorganismos em degradar a parede celular (Chesson, 1993).

O CPC das forrageiras pode apresentar digestibilidade variando entre 30 e 60%. Entre os diferentes tipos celulares que compõe os tecidos da planta, essa digestibilidade da parede celular pode variar de 0 a 100%, de acordo com a composição desta parede (Wilson, 1994).

O CPC é maior em gramíneas com metabolismo fotossintético C4, e em materiais colhidos em estágio avançado de maturação. O incremento na maturidade de um pasto ou de uma folha individual, geralmente, leva ao aumento no CPC e, conseqüentemente, a redução na digestibilidade desse material, devido ao aumento na espessura e lignificação da parede celular, e a

redução no conteúdo de proteína e outros componentes solúveis das células (Wilson, 1994).

As observações histológicas permitem avaliar mais claramente as características da parede celular e sua influência sobre a qualidade nutritiva dos alimentos, tanto em relação a baixa digestibilidade da forragem (Akin, 1989), quanto à dificuldade de quebra das partículas (Wilson, 1991).

Os tecidos que compõe a planta são constituídos por um conjunto de células com características químicas e estruturais próprias, desempenhando mesma função. Cada tecido possui composição química e física diretamente relacionada à sua função na planta. Tecidos designados à sustentação da planta possuem células densamente agrupadas, com paredes espessas e lignificadas. Por outro lado, tecidos relacionados ao processo de assimilação do carbono são ricos em cloroplastos e apresentam células com parede delgada e não lignificada (Mauseth, 1988; Fahn, 1985; Wilson, 1993).

Os principais tipos de tecidos que compõe a estrutura das gramíneas são: epiderme, parênquima clorofiliano e incolor (mesofilo), bainha do feixe vascular, tecido vascular (xilema e floema) e esclerênquima.

Os tecidos da lâmina foliar são diferenciados em tecidos condutores (feixes vasculares), formados pelas células do xilema e do floema, em tecido de suporte ou sustentação, o esclerênquima, que, em folhas de gramíneas, está frequentemente associado aos feixes vasculares e, em tecido assimilatório, formado pelas células do parênquima clorofiliano. Ambas as superfícies da folha são cobertas pela epiderme, que por sua vez, é coberta na face exterior pela cutícula.

A proporção dos tipos celulares com parede celular delgada ou espessa, geralmente, é responsável pelas diferenças no CPC e digestibilidade entre os diferentes tecidos e espécies. Estas proporções são mensuradas como a porcentagem de área ocupada pelos diferentes tecidos em seções transversais do material estudado (Wilson, 1994).

Os tipos celulares com parede celular secundária espessa, encontrados no tecido vascular, esclerênquima e bainha do feixe vascular (BFV), são os principais responsáveis pela baixa qualidade nutricional da forragem. Estes tecidos apresentam células densamente agrupadas e, portanto, sua pequena contribuição na área total dos tecidos, encobre seu grande efeito sobre a qualidade da forragem. Eles formam blocos multicelulares sólidos, os quais

compreendem grandes partículas no rúmen, sendo, freqüentemente, pouco digeridos devido a lignificação e dificuldade de acesso dos microorganismos ruminais à superfície da parede celular (Wilson, 1994).

Quando as células que formam um tecido possuem apenas paredes celulares primárias delgadas, como no mesofilo, floema e parênquima fundamental, o alto CPC na forragem não representa um problema para sua qualidade nutritiva. Esses tipos celulares não são lignificados e são facilmente fragmentados em pequenas partículas (Wilson, 1991) apresentando, geralmente, uma digestão rápida e completa (Chesson et al., 1986).

De acordo com a facilidade de digestão de suas paredes, os tipos celulares podem ser classificados como segue: mesofilo, floema, BFV, esclerênquima, epiderme, e feixe vascular lignificado (xilema + bainha de mestoma) (Akin, 1989; Wilson, 1993).

As características da parede celular associadas com a estrutura anatômica da planta, influenciam a facilidade de rompimento físico da forragem por meio da mastigação e digestão, e o tamanho e forma das partículas resultantes, as quais podem influenciar a taxa de passagem pelo rúmen e o consumo do alimento pelo animal (Akin, 1989).

Quando a estrutura do tecido vegetal é mantida após a ingestão pelo animal, o acesso dos microorganismos às células pode ser prejudicado devido a forte junção das células contíguas, que impede a separação das mesmas durante a digestão e, conseqüentemente, o acesso das bactérias à superfície externa da parede de algumas partículas. Assim, a digestão fica restrita à superfície interna da parede secundária, via lúmen das células que foram abertas pela mastigação ou corte. O processo de digestão requer a adesão das bactérias à superfície celular, sendo que as enzimas liberadas pelos microorganismos agem apenas na superfície imediatamente adjacente, e a proporção do total de parede digerida por unidade de tempo será mais influenciada pela espessura da parede (Wilson, 1997).

É importante estabelecer a diferença entre os termos parede celular e fibra, que freqüentemente são utilizados como sinônimos nas discussões sobre a qualidade da forragem. A parede celular, como já foi citado, é uma estrutura biológica complexa constituída por muitas moléculas diferentes, cuja biossíntese é controlada por enzimas e regulada por genes (Iiyama et al., 1993).

A fibra em detergente neutro (FDN) e a fibra em detergente ácido (FDA), são produtos analíticos que possuem características nutricionais que descrevem aqueles componentes da forragem que possuem baixa solubilidade em solventes específicos e são relativamente menos digestíveis que o amido. A extração com detergente neutro separa os materiais da planta em componentes celulares solúveis (açúcares, proteínas, amido, lipídios), os quais são praticamente 100% digestíveis, e na FDN ou parede celular, a qual é parcialmente digerida. A FDN é constituída, basicamente por celulose, hemicelulose, lignina, proteínas da parede celular e minerais. A extração com detergente ácido solubiliza a hemicelulose, e o produto restante é conhecido como FDA, constituído por celulose, lignina, proteínas da parede e minerais insolúveis (Wilson, 1994).

Nos estudos de anatomia vegetal o termo fibra é usado para designar células longas, com extremidades afiladas, encontradas em tecidos de sustentação como o esclerênquima e o tecido vascular lignificado. Essas células apresentam parede celular secundária espessada, freqüentemente lignificada (Mauseth, 1988; Fahn, 1995).

A organização estrutural ou a anatomia dos órgãos da planta, e seus tecidos constituintes, além de influenciar o consumo pelo efeito que produzem sobre a facilidade de fragmentação das partículas da forrageira, a natureza das partículas produzidas e sua taxa de passagem pelo rúmen, influenciam também na digestibilidade da parede celular, proporcionando maior ou menor acessibilidade de seus polissacarídeos aos microorganismos do rúmen (Wilson, 1993).

Portanto, para que os fenos de plantas colhidas no estágio de pós florescimento, bem como outros sub-produtos agroindustriais, possam ser utilizados na alimentação dos ruminantes de forma eficiente, deve-se buscar alternativas que permitam aumentar o valor nutritivo desses materiais e seu aproveitamento pelos animais, de forma que sejam minimizados os problemas já mencionados como: elevado conteúdo de parede celular, alto teor de fibra, baixa disponibilidade de compostos nitrogenados, alto teor de lignina e baixa digestibilidade da matéria seca.

Nos últimos anos vêm se desenvolvendo diversos tipos de tratamentos químicos, físicos e biológicos que têm por objetivo melhorar as características desses volumosos para que possam ser melhor aproveitados pelos ruminantes.

Dentre as diferentes alternativas para o tratamento químico de volumosos, a amonização, utilizando-se amônia anidra ou uréia, vem promovendo resultados bastante satisfatórios (Dias-da-Silva & Sundstol, 1986; Brown & Adjei, 1995; Sarmiento et al., 1999; Reis et al., 2001; Granzin & Dryden, 2003).

Em trabalhos realizados mais recentemente a uréia vem surgindo como uma alternativa para amonização de volumosos, por ser considerada um produto de alta disponibilidade, menos perigoso à intoxicação humana e, na maioria das vezes, menos oneroso que a amônia anidra (Sarmiento, 1999), além de o processo de aplicação ser mais fácil.

A uréia (NH_2CONH_2) é um sólido cristalino produzido a partir da amônia e do dióxido de carbono. Contém aproximadamente 45% de nitrogênio, e necessita de umidade e da presença da enzima urease para que possa ser transformada em amônia.

De modo geral, duas teorias explicam o efeito da amônia sobre os constituintes da parede celular de forragens. A primeira, denominada amonólise, baseia-se no rompimento de ligações éster entre moléculas de hemicelulose e entre hemicelulose e lignina, por ação direta da amônia, resultando na formação de amida (Tarkov & Feist, 1969). A segunda teoria envolve uma hidrólise alcalina resultante da reação entre o hidróxido de amônio, formado pela alta afinidade entre a amônia e a água, e as ligações do tipo éster da parede celular (Buettner et al., 1982).

Dentre os principais efeitos da ação da amônia sobre as forragens de baixo valor nutritivo, destaca-se a desestruturação do complexo formado pelos componentes da fibra (celulose, hemicelulose, lignina) oferecendo aos microorganismos maior área de exposição, aumentando o grau de utilização da fração fibrosa. Outro efeito marcante da amonização é o aumento no teor dos compostos nitrogenados, que geralmente é baixo e limita o crescimento do microrganismos ruminais (Garcia & Neiva, 1994).

Segundo Coelho da Silva (1984), os teores de proteína bruta dos resíduos fibrosos, na maioria das vezes, não chegam a atender a metade das exigências dos ruminantes, em regime de engorda, com desempenho baixo a moderado. De acordo com Van Soest (1994), os compostos nitrogenados provenientes da amonização podem contribuir para o aumento da digestibilidade dos alimentos fibrosos, por suprir a deficiência de nitrogênio no rúmen.

Inúmeros trabalhos de pesquisa, realizados com diferentes tipos de alimentos, têm constatado aumentos nos teores de nitrogênio após a amonização desses materiais (Reis et al., 1990; Paiva et al., 1995a; Ballet et al., 1997; Souza et al., 2001; Granzin & Dryden, 2003). Mas apesar de esses trabalhos relatarem aumentos expressivos no conteúdo de compostos nitrogenados de forragens amonizadas, a retenção do nitrogênio adicionado sofre grande variação, o que pode ser atribuído aos diversos fatores que influenciam o processo de amonização como : níveis de aplicação, períodos de amonização, temperatura ambiente, umidade e qualidade do material.

Uma vez que os compostos nitrogenados são retidos por meio de uma reação da amônia com a água dos materiais tratados e, ou, de uma reação de amonólise, a retenção de nitrogênio seria, portanto, limitada primeiramente pelo teor de umidade do material, bem como pelo número de ligações ésteres susceptíveis à reação de amonólise (Cardoso, 2000).

Schneider & Flachowsky (1990) constataram melhoria na retenção do nitrogênio adicionado a palha de trigo, quando o conteúdo de umidade foi elevado de 12 para 30 %. Dryden & Leng (1986) relataram que parte do nitrogênio adicionado via amonização é dissolvida no conteúdo de água livre das forragens e outra permanece ionicamente ligada aos ânions presentes no material. Assim, a quantidade de nitrogênio que permanece retido, após aeração do material tratado, dependerá do número de sítios de ligação e do conteúdo de umidade, e não do nível de aplicação de amônia.

O aproveitamento do nitrogênio não-protéico (NNP) na síntese de proteína microbiana irá depender da forma em que esse nitrogênio se encontra retido nos volumosos amonizados. Nestes volumosos tratados, o nitrogênio (N) pode estar retido sob diferentes formas, sendo as mais importantes em termos nutricionais, o N solúvel em água, o N amoniacal (N-NH_3), o N retido na fração insolúvel em detergente neutro (NIDN), e o N insolúvel em detergente ácido (NIDA) (Reis, 1997). Uma vez que o nitrogênio solúvel em água e o nitrogênio amoniacal podem ser facilmente assimilados pelos microorganismos ruminais, o que determinará a disponibilidade total de nitrogênio para o animal será a disponibilidade do nitrogênio ligado a parede celular (Gordon & Chesson, 1983).

O sistema de avaliação de dietas para ruminantes proposto por Fox et al., (1990), denominado "Cornell Net Carbohydrate and Protein System" (CNCPS),

propõe a divisão dos compostos nitrogenados do alimento em três frações, denominadas A, B e C, em função de sua disponibilidade para os microorganismos do rúmen.

A fração A, corresponde ao nitrogênio proveniente da amônia, peptídeos e aminoácidos, constituindo toda a proteína solúvel do alimento e sendo considerada de disponibilidade rápida.

A fração B é subdividida nas frações B1, B2 e B3, de acordo com as taxas de degradação das diferentes formas do nitrogênio que compõem a proteína verdadeira do alimento.

A fração B1 corresponde a proteína que apresenta rápida degradação no rúmen e equivale a quase toda a proteína solúvel das forrageiras. A fração B2 é a proteína verdadeira que apresenta velocidade média de degradação no rúmen (Sniffen et al., 1992). A proteína associada a parede celular, equivalente a fração B3, apresenta degradação lenta, e parte escapa à degradação ruminal. Analiticamente esta fração B3 corresponde ao nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) menos o nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA).

A proteína indisponível, fração C, corresponde ao nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA). Esta fração equivale a proteína associada à lignina, complexos proteína-tanino e produtos da reação de Maillard que são altamente resistentes à ação enzimática.

A importância de se conhecer os teores de NIDA dos alimentos, baseia-se no fato de que os compostos nitrogenados presentes nesta forma são indisponíveis para o animal (Sniffen et al., 1992).

Podem ocorrer aumentos nos teores de NIDN e NIDA das forragens, quando amonizadas, reduzindo a disponibilidade de nitrogênio total nesses materiais (Van Soest & Mason, 1991).

O efeito da amonização sobre a fração fibrosa dos volumosos tratados tem mostrado algumas contradições. A fração da FDN, normalmente, diminui, em razão da solubilização parcial da hemicelulose (Birkelo et al., 1986; Ferreira et al., 1990; Oliveros et al., 1993; Rosa et al., 1998; Cañeque et al., 1998; Granzin & Dryden, 2003), mas em alguns casos estes efeitos não são relatados (Glenn, 1990; Bem Salem et al., 1994; Djibrillou et al., 1998). Quanto aos teores de FDA, celulose e lignina apesar de a maioria dos trabalhos mostrarem a não alteração destes componentes (Reis et al., 1990a,b; Bem Salem et al.,

1994; Paiva et al., 1995b; Moreira et al., 1996; Pires et al., 1996; Reis et al., 1998b), alguns relatam diminuição nos teores de FDA (Hai & Singh, 1994; Reddy et al., 1993), celulose (Grossi et al., 1993; Pires et al., 1998) e lignina (Pereira et al., 1993; Reddy et al., 1993; Brown & Adjei, 1995; Reis et al., 1998a). Já outros trabalhos têm indicado aumentos nos teores de FDA (Teixeira, 1990; Grossi et al., 1993; Neiva et al., 1998) celulose (Givens et al., 1988; Teixeira, 1990; Reis et al., 1993) e lignina (Givens et al., 1988).

Os aumentos no conteúdo de FDA, celulose e lignina em volumosos tratados com amônia podem ser resultantes do efeito de concentração causado pela diminuição de um ou mais constituintes da parede celular (Givens et al., 1988). Os aumentos nos teores de FDA e lignina também podem ocorrer devido à reação de Maillard e, ou, devido à retenção de nitrogênio nestas frações (Van Soest & Mason, 1991; Goto et al., 1993)

Segundo Fahmy & Klopfenstain (1994), o acréscimo da fração FDA tem sido atribuído ao nitrogênio adicionado, que se apresenta, em parte, na forma de NIDA. Quando se observa diminuição da FDA, parte da lignina pode ter sido solubilizada.

De acordo com Leal et al. (1994), a redução no conteúdo de FDA da palhada tratada com amônia pode estar associada com a solubilização da lignina e da celulose, que ocorre devido ao decréscimo da cristalinidade da celulose, além da sua expansão e saponificação das ligações ésteres entre lignina e hemicelulose.

A lignina e os ácidos fenólicos esterificados são os principais fatores químicos que limitam a digestão ruminal dos constituintes da parede celular. O mecanismo pelo qual a lignina exerce efeito negativo na degradação da parede celular ainda não foi completamente elucidado, contudo, parte do seu efeito é atribuído a uma proteção física dos polissacarídeos à hidrólise enzimática (Jung, 1989). Os ácidos fenólicos, principalmente p-cumárico e ferrúlico, além de promoverem a ligação entre hemicelulose e lignina, também fazem ligações cruzadas entre polissacarídeos, aumentando a rigidez estrutural e reduzindo a taxa de degradação destes polissacarídeos (Jung & Deetz, 1993). Os possíveis mecanismos que promovem o incremento da degradabilidade de materiais amonizados incluem, a liberação dos ácidos fenólicos da parede celular e a solubilização da lignina acompanhada pela clivagem das ligações éster nos complexos lignina-polissacarídeos (Chesson, 1988).

Goto et al. (1993) observaram que a amônia fragiliza as estruturas internas e externas da parede celular, afetando os conteúdos de ácidos fenólicos e grupos acetil dos polissacarídeos da parede celular e facilitando o acesso de microorganismos do rúmen a parede celular.

A suposição de que as forragens amonizadas propiciariam melhores condições para a colonização de microorganismos ruminais foi confirmada por Silva & Orskov (1988). Nessa pesquisa, a palhada amonizada apresentou maior degradabilidade *in situ* e maior número de bactérias celulolíticas aderidas à parede celular que a não tratada.

Segundo Goto & Yokoe (1996), existem dois efeitos distintos que, juntos, atuam aumentando a degradabilidade de palhadas tratadas com amônia. O primeiro, diz respeito a amônia agindo como um álcali e promovendo pequenos rompimentos nos interpolímeros que ligam estruturas contendo ligações do tipo éster. Isso resultaria em rompimento da estrutura da parede celular e aumento na sua hidratação. O segundo, refere-se à habilidade da amônia formar complexos com a celulose, reduzindo sua cristalinidade, através do rompimento de pontes de hidrogênio; aumentando a sua fragilidade; e proporcionando melhor digestão enzimática. Esses fatores, em conjunto, promovem fragmentação mais rápida do material ingerido e melhoram a eficiência dos microorganismos no ataque às partículas de alimento.

As técnicas de anatomia vegetal podem ser usadas para avaliar a estrutura dos tecidos da planta e a digestão de plantas forrageiras, de forma a elucidar os fatores que afetam a degradação da forragem pelos microorganismos ruminais (Akin, 1979). Inúmeros trabalhos de pesquisa, utilizando diferentes tipos de plantas forrageiras, relacionam as características anatômicas das plantas com sua degradação pelos microorganismos ruminais (Hanna et al., 1973; Akin & Burdick, 1975; Wilson et al., 1983; Akin, 1989; Brito et al., 1997; Ventrella et al., 1997; Paciullo et al., 2001)

Apesar de o entendimento sobre as características anatômicas e histológicas das plantas forrageiras ser de fundamental importância para garantir seu melhor aproveitamento pelo animal, bem como para explicar o efeito de alguns tratamentos químicos, como a amonização, na melhoria da qualidade dos volumosos tratados, existem poucos trabalhos de pesquisa que avaliam estas características, em conjunto com as características químico-bromatológicas das forrageiras (Goto et al., 1993; Leal et al., 1994; Goto &

Yokoe, 1996; Shen et al., 1999). Além disso, a maioria dos trabalhos relacionados a este assunto são, geralmente, realizados utilizando-se gramíneas de clima temperado (C3), que por sua vez, possuem características bastante distintas das gramíneas de clima tropical, que predominam em nosso país.

Sendo assim, pode-se perceber a importância e necessidade da integração entre os estudos histo-anatômicos e químico-bromatológicos na definição de propostas mais eficazes com relação ao tratamento de forragens de baixa qualidade, proporcionando seu melhor aproveitamento pelos ruminantes.

Este trabalho foi descrito na forma de dois artigos científicos elaborados de acordo com as normas da Revista Brasileira de Zootecnia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKIN, D.E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. **Agronomy Journal**, v.81, p. 17-25, 1989.
- AKIN, D.E. Microscopic evaluation of forage digestion by rumen microorganisms – A review. **Journal Animal Science**, v.48, n.3, p. 701-710, 1979.
- AKIN, D.E.; BURDICK, D. Percentage of tissue types in tropical and temperate grass leaf blades and degradation of tissue by rumen microorganisms. **Crop Science**, v.15, p.661-668, 1975.
- BALLET, N., BESLE, J.M., DEMARQUILLY, C. Effect of ammonia and urea treatments on digestibility and nitrogen content of dehydrated lucerne. **Animal Feed Science and Technology**, v.67, p.69-72, 1997.
- BEN SALEM, H.; NEFZAQUI, A.; ROKBANI, N. Upgrading of sorghum stover with anhydrous ammonia or urea treatments. **Animal Feed Science and Technology**, v.48, n.1/2, p.15-26, 1994.
- BIRKELO, C.P.; JOHNSON, D.E.; WARD, G.M. Net energy value of ammoniated wheat straw. **Journal Animal Science**, v.63, n.6, p.2044-2052, 1986.
- BRETT, C.; WALDRON, K. **Physiology and biochemistry of plant cell walls**. 2. ed. Cambridge: Chapman e Hall. 1996. 255p.
- BRITO, C.J.F.A.; ALQUINI, Y.; RODELLA, R.A. et al. Alterações histológicas de três ecotipos de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), após digestão *in vitro*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1997. p.12-15.
- BROWN, W.F., ADJEI, M.B., Urea ammoniation effects on the nutritive value of Guinea grass (*Panicum maximum*) hay. **Journal Animal Science**, v.73, p.3085-3093, 1995.
- BUETTNER, M.R., LECHTENBERG, V.L., HENDRIX, K.S. et al. Composition and digestion of ammoniated tall fescue (*Festuca arundinaceae* Schreb) hay. **Journal Animal Science**, v.54, n.1, p.173-178, 1982.
- BURNS, J.C. Balancing forage quality and quantity. In: **Advances in hay, silage and pastures quality**. American Forage and Grassland Council, (Lexington, Kentucky), p. 8-23, 1978.
- CAÑEQUE, V.; VELASCO, S.; SANCHÁ, J.L. et al. Effect of moisture and temperature on the degradability of fiber and on nitrogen fractions in barley straw treated with urea. **Animal Feed Science and Technology**, v.74, p.241-258, 1998.
- CARDOSO, G.C. **Desempenho de novilhos simental alimentados com rações contendo palhada de arroz amonizada, silagem de sorgo, cana-de-açúcar e uréia**. Viçosa: UFV, 2000. 50p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2000.
- CHESSON, A. Cell wall matrix interactions and degradation. In: JUNG, H. G., BUXTON, D. R., HATFIELD, R. D. et al. (Eds.) **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: ASA-CSSA-SSSA, 1993. p. 347-376.

- CHESSON, A. Lignin-polysaccharide complexes of the plant cell wall and their effects on microbial degradation in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v.21, p.219-228, 1988.
- CHESSON, A.; STEWART, C.S.; DALGARNO, K. et al. Degradation of isolated grass mesophyll, epidermis and fibre cell walls in the rumen and by cellulolytic rumen bacteria in axenic culture. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 60, p. 327-336, 1986.
- COELHO DA SILVA, J.F. O ruminante e o aproveitamento de alimentos fibrosos. **Informe Agropecuário**, v.119, n.8, p.8-15, 1984.
- DIAS-DA-SILVA, A.A., SUNDSTØL, F. Urea as a source of ammonia for improving the nutritive value of wheat straw. **Animal Feed Science and Technology**, v.14, p.67-79, 1986.
- DJIBRILLOU, O.A.; PANDEY, V.S.; GOURO, S.A. et al. Effect of urea-treated or untreated straw with cotton seed on performance of lactating Maradi (Red Sokoto) goats in Níger. **Livestock Production Science**, v.55, n.2, p.117-125, 1998.
- DRYDEN, G.M., LENG, R.A. Treatment of barley straw with ammonia and sulfur dioxide gases under laboratory conditions. **Animal Feed Science and Technology**, v.14, n.1/2, p.41-51, 1986.
- FAHMY, S.T.M., KLOPFENSTEIN, T.J. Treatment with different chemicals and their effects on the digestibility of maize stalks. 2. Intake and in vivo digestibility as affected by chemical treatment and monensin supplementation. **Animal Feed Science and Technology**, v.45, n.3/4, p. 309-316, 1994.
- FAHN, A. **Plant Anatomy**. 3. ed. Oxford: Pergamon Press, 1985, 544p.
- FERREIRA, J.Q.; GARCIA, R.; QUEIROZ, A.C. et al. Efeitos dos níveis de amônia anidra e dos períodos pós-tratamento sobre a qualidade da palha de arroz. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.19, n.1, p.39-43, 1990.
- GARCIA, R., NEIVA, J.N.M. Utilização da amonização na melhoria da qualidade de volumosos para ruminantes. SIMPÓSIO NORDESTINO DE ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES, 1994, Salvador. **Anais...** Salvador, p. 41-57, 1994.
- GIVENS, D.I.; ADAMSON, A.H.; COBBY, J.M. The effect of ammoniation on the nutritive value of wheat, barley measurement "in vivo" and their prediction from laboratory measurements. **Animal Feed Science Technology**, v.19, n.1/2, p.173-184, 1988.
- GLEN, B.P. Effects of dry matter concentration and ammonia treatment of alfalfa silage on digestion and metabolism by heifers. **Journal Dairy Science**, v.73, n.4, p.1081-1090, 1990.
- GORDON, A.H., CHESSON, A. The effect of prolonged storage on the digestibility and nitrogen content of ammonia-treated barley straw. **Animal Feed Science and Technology**, v.8, n.2, p.147-153, 1983.
- GOTO, M., YOKOE, Y. Ammoniation of barley straw. Effect on cellulose crystallinity and water-holding capacity. **Animal Feed Science and Technology**, v.58, n.3/4, p.239-247, 1996.

- GOTO, M., YOKOE, Y., TAKABE, K., NISIKAWA, S. MORITA, O. Effects of gaseous ammonia on chemical and structural features of cell walls in spring barley straw. **Animal Feed Science and Technology**, v.40, n.2/3, p.207-221, 1993.
- GRANZIN, B.C., DRYDEN, G.McL. Effects of alkalis, oxidants and urea on the nutritive value of rhodes grass (*Chloris gayana* cv. Callide). **Animal Feed Science and Technology**, v.103, p.113-122, 2003.
- GROSSI, S.F.; REIS, R.A.; EZEQUIEL, J.M.B. et al. Tratamento de volumosos com amônia anidra ou uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.22, n.4, p.651-659, 1993.
- HAI, N.V.; SINGH, G.P. Effect of ammoniation through urea treatment of oat straw on the rumen degradability of fiber. **Indian Journal of Dairy Science**, v.47, n.3, p.176-180, 1994.
- HANNA, W.W.; MONSON, W.G.; BURTON, G.W. Histological examination of fresh forage leaves after *in vitro* digestion. **Crop Science**, v.13, p.98-102, 1973.
- HOFMANN, R.R. Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: A comparative view of their digestive system. **Oecologia**, v.78, p.443, 1989.
- IYAMA, K.; LAM, T.B.T.; MEILKE, D.I. et al. Cell wall biosynthesis and its regulation. In: FORAGE CELL WALL STRUCTURE AND DIGESTIBILITY, 1993, Madison, **Proceedings...** Madison: ASA-CSSA-SSSA, 1993, p. 621.
- JUNG, H.G. Forage lignins and their effects on fiber digestibility. **Agronomy journal**, v.81, p.33-88, 1989.
- JUNG, H.G., DEETZ, D.A. Mechanistic models of forage cell wall degradation. In: JUNG, H. G., BUXTON, D. R., HATFIELD, R. D. et al. (Eds.) **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: ASA-CSSA-SSSA, 1993. p. 315-346.
- LEAL, M.; SHIMADA, A.; HERNÁNDEZ, E. The effect of NH₃ and/or SO₂ on the compositional and histological characteristics of sorghum stover. **Animal Feed Science and Technology**, v.47, n.1/2, p. 141-150, 1994.
- MAUSETH, J.D. **Plant anatomy**. Menlo Park/California: Benjamin Cummings Publishing Company, 1988. 560p.
- MINSON, D.J. **Forage in ruminant nutrition**. New York: Academic Press, 1990.
- MOREIRA, V.R.; SILVA, H.C.M.; GONÇALVES, L.C. et al. Valor nutritivo da *Brachiaria decumbens* tratado com hidróxido de sódio ou amônia anidra, ou misturado à calotropis procera – II. Fibra e energia Bruta. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., 1996, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1996. p.21-26.
- NEIVA, J.N.M.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Características químicas da silagem e do rolão de milho amonizados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.3, p.461-465, 1998.

- OLIVEROS, B.A.; BRITTON, R.A.; KLOPFENSTEIN, T.J. Ammonia and/or calcium hydroxide treatment of maize stover, intake, digestibility and digestion kinetics. **Animal Feed Science and Technology**, v.44, n.1/2, p.59-72, 1993.
- PACIULLO, D.S.C.; GOMIDE, J.A.; QUEIROZ, D.S. et al. Correlações entre componentes anatômicos, químicos e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de gramíneas forrageiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.955-963, 2001.
- PAIVA, J.A.J., GARCIA, R., QUEIROZ, A.C., REGAZZI, A.J. Efeitos dos níveis de amônia anidra e períodos de amonização sobre os teores de compostos nitrogenados e retenção de nitrogênio na palhada de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.24, n.5, p.673-681, 1995a.
- PAIVA, J.A.J.; GARCIA, R.; QUEIROZ, A.C. et al. Efeitos dos níveis de amônia anidra e períodos de amonização sobre os teores dos constituintes da parede celular na palhada de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.24, n.5, p.683-692, 1995b.
- PEREIRA, J.R.A.; EZEQUIEL, J.M.B.; REIS, R.A. et al. Efeitos da amonização sobre o valor nutritivo do feno de capim – braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.28, n.12, p.1451-1455, 1993.
- PIRES, A.J.V.; GARCIA, R.; CECON, P.R. et al. Amonização da quirera de milho com alta umidade. II. Constituintes da parede celular e DIVMS. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., 1996, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1996. p.338-340.
- PIRES, A.J.V.; GARCIA, R.; SILVA, F.F. et al. Qualidade de silagens de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) tratadas com uréia e/ou sulfeto de sódio. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998. p.61-63.
- REDDY, D.V.; RAMACHANDRA REDDY, R.; SUBRA REDDY, K.V. Effect of urea-ammoniation of moist sorghum hay chemical composition and degradation kinetics. **Indian Journal of Dairy Science**, v.10, n.1, p.45-48, 1993.
- REIS, R.A., GARCIA, R., QUEIROZ, A.C. et al. Efeito da aplicação de amônia anidra sobre a composição química e digestibilidade “in vitro” dos fenos de três gramíneas forrageiras de clima tropical. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.19, n.3, p.219-224, 1990a.
- REIS, R.A.; GARCIA, R.; SILVA, D.J. et al. Efeitos da aplicação de amônia sobre a digestibilidade do feno do capim-braquiária. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.19, n.3, p. 201-208, 1990b.
- REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A.; NAHAS, E. et al. Amonização do feno de *Brachiaria decumbens* com diferentes teores de umidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.28, n.4, p.539-543, 1993.
- REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A.; PEREIRA, J.R.A. et al. Procedimentos analíticos para predizer a eficiência da amonização. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998a. p.137-139.

- REIS, R. A., RODRIGUES, L.R.A., PEREIRA, J.R.A. et al. Composição química e digestibilidade de fenos tratados com amônia anidra ou uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.666-673, 2001a.
- REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A.; RUGGIERI, A.C. et al. Avaliação de fontes de amônia para o tratamento de fenos de gramíneas tropicais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998b. p.563-565.
- REIS, R.A.; ROSA, B.; MOREIRA, A.L. Tratamento químico de volumosos: amonização. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa, 2002. p.407-436.
- ROSA, B.; REIS, R.A.; RESENDE, K.T. et al. Valor nutritivo do feno de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. basilisk submetido a tratamento com amônia anidra e uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.4, p.815-822, 1998.
- SARMENTO, P., GARCIA, R., PIRES, A.J.V., NASCIMENTO, A. Tratamento do bagaço de cana-de-açúcar com uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.6, p.1203-1208, 1999.
- SCHNEIDER, M., FLACHOWSKY, G. Studies on ammonia treatment of wheat straw: effects of level of ammonia, moisture content, treatment time and temperature on straw composition and degradation in the rumen of sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.29, n.3/4, p.252-264, 1990.
- SEIFFERT, N. F. Produção de feno com forrageiras de verão. **Informe Agropecuário**, v.6, n.64, p.8-11, 1988.
- SHEN, H.S.; SUNDSTOL, F.; ENG, E.R. et al. Studies on untreated and urea-treated rice straw from three cultivation seasons: 3. Histological investigations by light and scanning electron microscopy. **Animal Feed Science and Technology**, v.80, p.151-159, 1999.
- SILVA, A.T., ØRSKOV, E.R. Fiber degradation in the rumens of animals receiving hay, untreated or ammonia-treated straw. **Animal Feed Science and Technology**, v.19, n.3, p.277-287, 1988.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: 11. Carbohydrate and protein availability. **Journal Animal Science**, v.70, n.10, p.3562-3577, 1992.
- SOUZA, A.L.; GARCIA, R.; PEREIRA, O.G. et al. Composição químico-bromatológica da casca de café tratada com amônia anidra e sulfeto de sódio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3 (suplemento1), p.983-991, 2001.
- TAIZ, L., ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 2nd edition. Sinauer Associates Inc., Publ. 1998, 792p.
- TARKOV, H., FEIST, W.C. A mechanism for improving the digestibility of lignocellulosic materials with dilute alkali and liquid ammonia. **Advances in Chemistry**, v.95, p.197-218, 1969.

- TEIXEIRA, J.R.C. **Efeito da amônia anidra no valor nutritivo da palha de milho mais sabugo e do capim elefante (*pennisetum purpureum* Schum.) cv. Camerom fornecidos a novilhos Nelore em confinamento.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1990. 97p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1990.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant.** Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- VAN SOEST, P.J., FERREIRA, A. M., HARTLEY, R. D. Chemical properties of fibre in relation to nutritive quality of ammonia-treated forages. **Animal Feed Science and Technology**, v.10, n.2, p.155-164, 1983.
- VAN SOEST, P.J., MASON, V.C. The influence of Maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.32, n.1/3, p.45-53, 1991.
- VENTRELLA, M.C.; RODELLA, R.A.; COSTA, C. et al. Anatomia e bromatologia de espécies forrageiras de *Cynodon* Rich. 1 – Folha. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1997. p.12-15.
- WILSON, J.R. Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. **Journal of Agriculture Science**, v.122, p. 173-182, 1994.
- WILSON, J.R. Organization of forage plant tissues. In: JUNG, H. G., BUXTON, D. R., HATFIELD, R.D. et al. (Eds.) **Forage cell wall structure and digestibility.** Madison: ASA-CSSA-SSSA, 1993. p. 1-32.
- WILSON, J.R. Plant structures: their digestive and physical breakdown. In: RECENT ADVANCES ON THE NUTRITION OF HERBIVORES, 1991, Kuala Lumpur. **Proceedings...** Kuala Lumpur: Malayasian Society of Animal Production, 1991, p. 207-216.
- WILSON, J.R. Structural and anatomical traits of forages influencing their nutritive value for ruminants. In: **Simpósio Internacional sobre Produção Animal em Pastejo**, 1997, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 1997. p. 173-208.
- WILSON, J.R.; BROWN, R.H.; WINDHAM, W.R. Influence of leaf anatomy on the dry matter digestibility of C₃, C₄, and C₃/C₄ intermediate types of *Panicum* species. **Crop Science**, v.23, p.141-146, 1983.

Composição Químico-bromatológica e Digestibilidade *In Vitro* do Feno de *Brachiaria decumbens* Stapf. Tratado com Uréia

RESUMO – Avaliaram-se os efeitos da adição de uréia em níveis crescentes, sobre a composição químico-bromatológica e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) do feno de capim-braquiária colhido no estágio de pós-florescimento. O feno de capim-braquiária com 89% de matéria seca (MS) foi tratado com seis níveis de uréia (0, 2, 4, 6, 8 e 10%) com base na MS. A uréia foi dissolvida em quantidade suficiente de água, para elevar o teor de umidade do feno para 30%. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições. O feno tratado foi armazenado em sacos plásticos (2 kg/saco) vedados, por 35 dias e, após abertura foram coletadas amostras para as análises laboratoriais. Verificou-se que o teor de nitrogênio total (NT) aumentou linearmente em função dos níveis crescentes de uréia. O teor de nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) apresentou comportamento quadrático, estimando-se valor máximo de 0,56%, referente ao nível de 6,67% de uréia, enquanto o teor de nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) não foi alterado pelo tratamento com uréia. Os teores de NIDN e NIDA em relação ao nitrogênio total (NIDN/NT e NIDA/NT), tiveram redução linear em função dos níveis crescentes de uréia, demonstrando aumento nos teores de nitrogênio disponível no material amonizado. A adição de uréia promoveu redução no teor de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e celulose. Os teores de hemicelulose e lignina não foram alterados pelo tratamento com uréia. A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi influenciada de forma quadrática pelos níveis de uréia, estimando-se valor máximo de 68,9% para o nível de 7,15% de uréia. A amonização com uréia alterou a composição química e a digestibilidade do feno de capim-braquiária, melhorando o valor nutritivo do material tratado, demonstrando ser esta uma boa alternativa para obtenção de forragem de qualidade durante a estação seca do ano.

Palavras-chave: amonização, digestibilidade, NIDA, NIDN, nitrogênio total
parede celular.

Bromatological Composition and *In Vitro* Digestibility of *Brachiaria decumbens* Stapf. Hay Treated with Urea

ABSTRACT – An experiment was conducted to evaluate the effects of urea treatment on the chemical-bromatologic compounds and *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) of Signal grass hay (*Brachiaria decumbens* Stapf.). In the trial, 2kg portions of hay were reconstituted with water to get final forage moisture concentration of 30%, and treated with urea at 0, 2, 4, 6, 8, and 10% of the forage dry matter. A completely randomized design with three replicates was used. The material was stored in plastic bags (2kg/plastic bag) for 35 days, and after plastic bag opening, samples were collected to chemical analysis. Hay total nitrogen (TN) concentration increased linearly with increasing urea level. The chemical treatment with urea increased neutral detergent insoluble nitrogen (NDIN), whereas acid detergent insoluble nitrogen (ADIN) was not affected. The NDIN/total nitrogen and ADIN/total nitrogen ratios decreased with increasing urea level. The neutral detergent fibre (NDF), acid detergent fibre (ADF) and cellulose contents decreased due to ammoniation with urea. The hemicellulose and lignin contents were not affected with urea treatment. The *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) had a quadratic response to the increasing urea level reaching the maximum digestibility of 68,9% at the 7,15% urea level. Urea ammoniation altered the chemical composition and digestibility of the Signal grass hay, improving the nutritive value of forage and providing an option for forage quality improvement during the dry season.

Keywords: ADIN, ammoniation, cell wall, digestibility, NDIN, total nitrogen.

Introdução

A maior parte do território brasileiro apresenta condições climáticas definidas por uma estação chuvosa, na qual se concentra 75 a 85% da produção das plantas forrageiras, e uma estação seca, que responde por apenas 15 a 25% da produção forrageira anual.

A grande produção das forrageiras no período chuvoso, muitas vezes, é sub-utilizada e parte acaba sendo perdida, enquanto que no período seco do ano ocorre escassez de forragem para alimentação dos rebanhos. No entanto, para que os animais mantenham bons níveis de produção ao longo do ano, faz-se necessário o uso de volumosos de qualidade também no período seco, uma vez que as exigências nutricionais dos animais permanecem as mesmas durante todo ano.

A fenação pode ser uma boa opção para o aproveitamento do excesso de forragem produzida no período chuvoso. No entanto, essa prática encontra como obstáculo adequar o estágio de desenvolvimento ideal da forrageira, ou seja, a produção máxima com elevado valor nutritivo, às condições apropriadas para rápida desidratação do material (Burns, 1978; Seiffert, 1988). Dessa forma, com o intuito de contornar os problemas climáticos que limitam os processos de conservação, muitas vezes, opta-se pelo corte da forrageira no período de outono, quando diminui o risco de chuvas. Entretanto, nesta época do ano, geralmente ocorre queda acentuada no valor nutritivo das gramíneas forrageiras tropicais em decorrência do florescimento (Reis et al., 2002).

Os fenos produzidos a partir de gramíneas de clima tropical colhidas no estágio de pós-florescimento, bem como as palhadas obtidas após a colheita de grãos de cereais e sementes de gramíneas forrageiras, são alimentos essencialmente energéticos, de baixo teor protéico e mineral, baixa digestibilidade e baixo consumo voluntário.

Apesar de esses produtos serem considerados uma alternativa para a alimentação dos rebanhos no período de escassez de forragem, eles possuem características que limitam seu aproveitamento pelos animais, podendo-se citar: o elevado conteúdo de parede celular, alto teor de fibra (FDN, FDA), teor elevado de lignina, baixa disponibilidade de compostos nitrogenados e baixa digestibilidade da matéria seca.

Para que esses volumosos de baixa qualidade, possam ser utilizados de forma eficiente na alimentação de ruminantes, deve-se buscar alternativas que permitam aumentar seu valor nutritivo e seu aproveitamento pelos animais, de modo que sejam minimizados os problemas mencionados anteriormente.

Nos últimos anos vêm se desenvolvendo diversos tipos de tratamentos químicos, físicos e biológicos que têm por objetivo melhorar as características desses volumosos para que possam ser melhor aproveitados pelos ruminantes.

Dentre as diferentes alternativas para o tratamento químico de volumosos, a amonização, utilizando-se uréia como fonte de amônia, vem promovendo resultados bastante satisfatórios (Sarmiento et al., 1999; Reis et al., 2001a,b,c; Granzin & Dryden, 2003). O uso da uréia para o tratamento químico de volumosos vem se firmando como uma alternativa viável, por se tratar de um produto com grande disponibilidade no mercado, fácil de ser aplicado, menos perigoso à intoxicação humana e, na maioria das vezes, menos oneroso que a amônia anidra.

Diversos resultados de pesquisa têm mostrado que o tratamento de volumosos de baixa qualidade, utilizando-se fontes de amônia, pode melhorar a qualidade desses produtos, elevando de forma significativa seu valor nutritivo e conseqüentemente seu consumo e aproveitamento pelos animais (Dias-da-Silva & Sundstol, 1986; Brown & Adjei, 1995; Cardoso, 2000; Reis et al., 2001; Granzin & Dryden, 2003). No entanto, os resultados obtidos são bastante variáveis.

Sendo assim, conduziu-se esse experimento, objetivando-se avaliar as alterações na composição químico-bromatológica do feno de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf.), tratado com diferentes níveis de uréia.

Material e Métodos

O Experimento foi conduzido nas dependências do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa-MG, no período de 12 de dezembro de 2002 a 16 de janeiro de 2003. As análises laboratoriais foram realizadas nos Laboratórios de Nutrição Animal e de Forragicultura do Departamento de Zootecnia da UFV.

O feno foi produzido com o capim-braquiária, colhido no estágio de pós-florescimento. Este foi tratado com os seguintes níveis de uréia: 0 (controle), 2,

4, 6, 8 e 10%, na base da matéria seca. A composição químico-bromatológica do feno de capim-braquiária utilizado no ensaio experimental encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1. Composição químico-bromatológica do feno de capim-braquiária utilizado no ensaio experimental.

Item	%
Matéria Seca	85,4
Nitrogênio Total (%MS)	0,87
NIDN /NT	48,8
NIDA /NT	24,8
FDN (%MS)	87,8
FDA (%MS)	49,7
Hemicelulose (%MS)	36,1
Celulose (%MS)	38,4
Lignina (%MS)	10,2
DIVMS	54,0

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos e três repetições.

O feno tratado ou não com uréia foi acondicionado em sacos plásticos etiquetados, vedados e armazenados em galpão coberto.

As quantidades de uréia utilizadas para amonização do feno foram calculadas de acordo com a quantidade de feno a ser tratado (2 kg feno/saco) e com o teor de matéria seca do material. A uréia foi dissolvida em quantidade suficiente de água para elevar o teor de umidade do feno para 30%. Procedeu-se a distribuição da mesma sobre as camadas de feno, dentro dos sacos, com auxílio de um regador.

O material tratado foi armazenado em galpão coberto por 35 dias e ao final deste período, os sacos foram abertos e submetidos a um período de aeração de 24 horas, para que a amônia que não reagiu com o material fosse eliminada.

A coleta de amostras de cada tratamento foi feita após a homogeneização do material contido em cada saco, sendo em seguida acondicionadas em

sacos plásticos e armazenadas em congelador. As amostras utilizadas nas análises químico-bromatológicas não sofreram pré-secagem em estufa, evitando-se assim, a perda de nitrogênio. Estas foram colocadas em sacos plásticos e congeladas em nitrogênio líquido, sendo imediatamente moídas em moinho com peneira de 1mm. As amostras moídas foram acondicionadas em recipientes com tampa, etiquetados e armazenados em geladeira.

Foram determinados os teores de matéria seca (MS), nitrogênio total (NT), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, hemicelulose, celulose, nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), além da digestibilidade “in vitro” da matéria seca, segundo metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002).

Os resultados obtidos foram interpretados estatisticamente por meio de análises de variância e de regressão. Os modelos que melhor explicaram o comportamento das variáveis, foram escolhidos com base no coeficiente de determinação ajustado; pela significância da regressão e da falta de ajustamento, testados pelo teste F; pela significância dos coeficientes de regressão, testada pelo teste “t” adotando-se o nível de 1% de probabilidade.

As análises estatísticas foram realizadas, utilizando-se os procedimentos de modelos lineares gerais (GLM) e de regressão (REG) do Sistema para Análises Estatísticas SAS (1990).

Resultados e Discussão

Os teores percentuais médios de nitrogênio total (NT), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e NIDN e NIDA em relação ao nitrogênio total (NIDN/NT e NIDA/NT), do feno de capim-braquiária tratado com diferentes níveis de uréia, juntamente com suas equações de regressão e coeficientes de determinação, são apresentados na Tabela 2.

O teor de nitrogênio total do feno cresceu linearmente ($P < 0,001$) com o incremento dos níveis de uréia (Tabela 2). Isto pode ser explicado pelo fato de ter-se adicionado ao feno, níveis crescentes de nitrogênio não-protéico (NNP). Aumentos nos teores de NT para níveis crescentes de uréia, também foram encontrados nos trabalhos realizados por Brown & Adjei (1995), Cândido et al.

(1999) e Granzin & Dryden (2003), com feno de capim-colonião, bagaço de cana e capim de rhodes, respectivamente.

É importante considerar que o teor de NT do feno não tratado com uréia é baixo (0,86%), sendo considerado inadequado para suprir os requerimentos nutricionais dos ruminantes em produção (Van Soest, 1984). Portanto, o tratamento do feno com uréia, e o conseqüente aumento no teor de NT, pode contribuir para suprir esta necessidade de nitrogênio para síntese microbiana e, ou, reduzir a necessidade de uma fonte suplementar de nitrogênio para o rebanho.

Foi observado efeito ($P < 0,001$) dos níveis de uréia sobre os teores de nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), cujos dados ajustaram-se a um modelo quadrático (Tabela 2), estimando-se valor máximo de 0,56%, para fenos tratados com 6,67% de uréia. Constata-se pois, que a aplicação de uréia pode aumentar a retenção de nitrogênio na parede celular. Por outro lado, não observou-se efeito de níveis de uréia sobre o teor de NIDA, registrando-se valor médio de 0,24%.

Tabela 2. Valores observados de nitrogênio total (NT), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e NIDN e NIDA em relação ao nitrogênio total (NIDN/NT e NIDA/NT), juntamente com suas respectivas equações de regressão e coeficientes de determinação, ajustadas em função dos níveis de uréia (U).

Item	Nível de uréia (%)						Equação de regressão
	0	2	4	6	8	10	
NT ¹	0,87	1,62	2,29	2,99	3,92	4,03	$= 0,9513 + 0,3330^{***}U$ ($r^2=0,98$)
NIDN ¹	0,42	0,49	0,56	0,56	0,54	0,54	$= 0,4301 + 0,0387^{***}U - 0,0029^{***}U^2$ ($R^2=0,93$)
NIDA ¹	0,21	0,23	0,25	0,26	0,26	0,22	$= 0,24$
NIDN/NT	48,8	30,7	24,6	18,5	14,1	13,6	$= 41,6164 - 3,3153^{***}U$ ($r^2=0,84$)
NIDA/NT	24,8	14,4	11,0	8,8	6,6	5,5	$= 20,5858 - 1,7439^{***}U$ ($r^2=0,79$)

¹ valores observados, expressos em %MS

*** significativo a 0,1% de probabilidade pelo teste "t"

Granzin & Dryden (2003), utilizando capim-de-rhodes tratado com 0, 2, 4, 6 e 8% de uréia com base na MS, também não verificaram efeito da uréia sobre os teores de NIDA do capim. Isto sugere que o nitrogênio dosado foi pouco retido na porção insolúvel em detergente ácido (celulose e lignina), ou ainda, que ocorreu uma solubilização parcial destes compostos, sendo importante considerar que os compostos nitrogenados presentes na forma de NIDA, são indisponíveis para os animais (Sniffen et al., 1992).

A relação NIDN/NT e NIDA/NT diminuiu ($P < 0,001$) em resposta a amonização com uréia e os dados ajustaram-se a modelos lineares (Tabela 2).

Ao se estimar a quantidade de nitrogênio disponível (ND), correspondente a soma das frações A, B1 e B3 no sistema de avaliação de dietas para ruminantes, proposto por Fox et al. (1990), encontraram-se os valores médios de 0,44; 1,13; 1,73; 2,43; 3,38 e 3,49 para os níveis de 0; 2; 4; 6; 8 e 10% de uréia, respectivamente. As frações A, B1 e B2 equivalem ao N-NH₃, peptídeos e aminoácidos (A), proteína verdadeira rapidamente degradada no rúmen (B1) e proteína verdadeira com velocidade média de degradação ruminal (B2). O aumento gradual no teor de ND em função dos níveis de uréia, evidencia que a adição de nitrogênio não-protéico (NNP) promoveu diluição dos conteúdos de NIDN e NIDA, tendo como consequência um aumento na disponibilidade de nitrogênio para os microorganismos ruminais.

Campos (1995), Reis et al. (1998, 2001c) e Souza et al. (2001), obtiveram resultados semelhantes, evidenciando os efeitos positivos da amonização sobre a fração nitrogenada dos volumosos tratados.

Os teores médios de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose, celulose e lignina do feno de capim-braquiária tratado com uréia, e suas respectivas equações de regressão encontram-se na Tabela 3.

O teor de FDN do feno foi influenciado de forma quadrática ($P < 0,01$), pelos níveis de uréia (Tabela 3), estimando-se valor mínimo de 81,0% para o nível de 9,05% de uréia. Esta redução nos teores de FDN, pode ser atribuída ao fato de ocorrer solubilização parcial da fração hemicelulose da parede celular (Van Soest et al., 1984).

Nos trabalhos conduzidos por Reis et al. (2001b), Fernandes et al. (2002) e Granzin & Dryden (2003), com amonização de fenos de gramíneas tropicais, feno de capim-braquiária, e capim-de-rhodes, respectivamente, também

observo-se redução nos teores de FDN devido ao tratamento dos volumosos com uréia.

Tabela 3. Teores médios de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose (HEM), celulose (CEL) e lignina do feno e suas respectivas equações de regressão, ajustadas em função dos níveis de uréia (U).

Item	Nível de uréia (%)						Equação de regressão
	0	2	4	6	8	10	
FDN ¹	87,7	86,3	84,2	80,5	80,1	81,3	= 88,4638 – 1,6381***U + 0,0905**U ² (R ² =0,92)
FDA ¹	49,7	49,0	45,5	45,6	44,5	43,9	= 49,4134 – 0,6096***U (r ² =0,89)
HEM ¹	38,0	37,3	38,6	35,0	35,7	37,4	= 37,0
CEL ¹	38,4	38,2	36,1	35,5	35,0	34,6	= 38,3777 – 0,4125***U (r ² =0,91)
Lignina ¹	10,2	10,2	8,9	8,8	8,8	8,3	= 9,2

¹ valores observados, expressos em %MS

*** significativo a 0,1% de probabilidade pelo teste “t”

** significativo a 1% de probabilidade pelo teste “t”

Em relação aos teores de hemicelulose, não foi observado efeito de níveis de uréia, estimando-se valor médio de 37,0%. No entanto, boa parte dos estudos sobre a amonização de volumosos com uréia tem registrado diminuição nos teores dessa fração da parede celular (Brown & Adjei, 1995; Rosa et al. 1998, Reis et al. 2001b). Uma justificativa para este comportamento da hemicelulose, pode ser o fato de a mesma ser calculada a partir da diferença entre os teores de FDN e FDA, uma vez que as curvas de redução de FDN e FDA apresentaram comportamento diferenciado (quadrático e linear, respectivamente), em relação aos tratamentos com uréia. A Figura 1 apresenta as curvas de resposta dos teores de FDN, FDA e hemicelulose do feno, em função dos níveis de uréia.

Os teores de FDA e celulose foram reduzidos linearmente (P<0,001) em função dos níveis de uréia. Esse comportamento pode ser justificado pelo fato de que quando materiais fibrosos são tratados com produtos alcalinos, como a uréia, as ligações intermoleculares, mais especificamente as pontes de hidrogênio, entre as moléculas de celulose, se rompem, solubilizando parte

deste componente da parede celular (Van Soest, 1994). Segundo Klopfenstein et al. (1978), a redução no conteúdo de FDA nos materiais amonizados está associada com a solubilização de lignina e celulose, presumidamente como um resultado da redução da cristalinidade da celulose e também devido a sua expansão e saponificação das ligações éster entre lignina e hemicelulose.

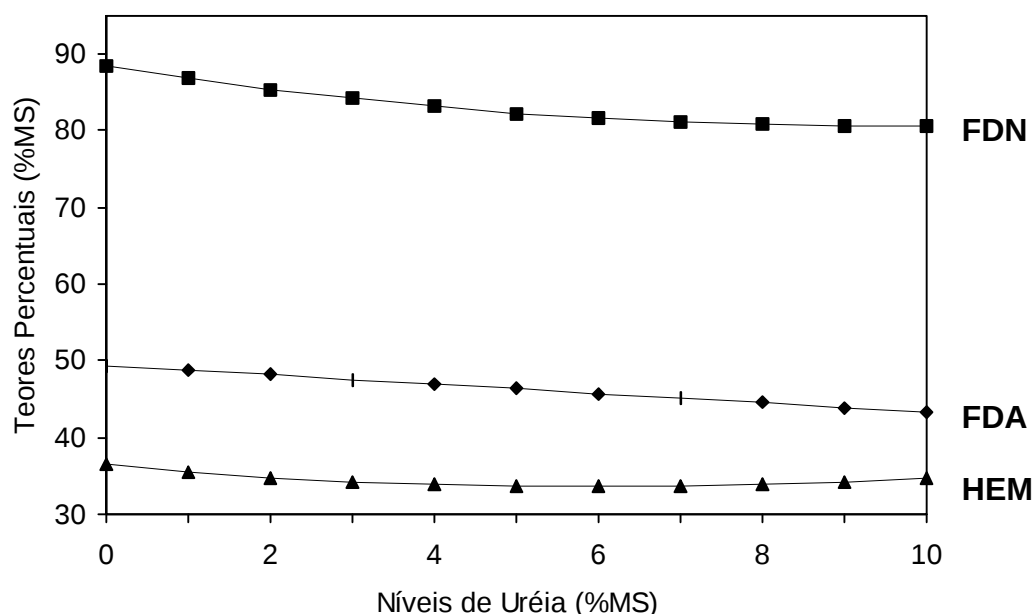


Figura 1. Estimativas de teores médios de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e hemicelulose (HEM), do feno de capim braquiária, em função dos níveis de uréia.

Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Reddy et al. (1993) Hai Singh et al. (1994) e Leal et al. (1994), que observaram redução nos teores de FDA de feno de sorgo, palhada de aveia e palhada de sorgo, respectivamente, tratados com fontes de amônia. Já Fahmy e Klopfenstein (1994), Leal et al. (1994) e Shen et al. (1998) também relataram redução no teor de celulose de volumosos amonizados.

A exemplo da hemicelulose, o teor de lignina não foi influenciado pelos níveis de uréia, registrando-se valor médio de 9,2% (Tabela 3). Shen et al. (1998), Souza et al. (2001) e Reis et al. (2001b), também não detectaram efeito da amonização sobre o teor de lignina. No entanto, as respostas do teor de lignina de volumosos em relação a amonização é bastante variável e contraditória.

É importante considerar, que as respostas à amonização de volumosos variam em função de diversos fatores, como o conteúdo de umidade do material tratado e características químicas da planta (Van Soest, 1994).

A digestibilidade *in vitro* foi influenciada de forma quadrática ($P < 0,001$) pelos níveis de uréia, estimando-se valor máximo de 68,9% para o nível de 7,15% de uréia, conforme a equação de regressão $y = 54,0025 + 4,1916^{***}U - 0,2931^{***}U^2$ ($r^2 = 0,99$).

Os aumentos na DIVMS de materiais amonizados devem-se à ação da amônia sobre os constituintes da parede celular. A amônia pode agir sobre as moléculas de hemicelulose promovendo o rompimento de ligações e a solubilização parcial deste componente, facilitando a ação dos microrganismos ruminais sobre a parede celular (Klopfenstein, 1978). Além disso, existe a possibilidade de a amônia promover o rompimento das pontes de hidrogênio entre as moléculas de celulose, promovendo sua solubilização parcial (Van Soest, 1994), e entre as moléculas de celulose e hemicelulose, permitindo uma hidratação mais rápida e eficiente da parede celular, facilitando o acesso dos microrganismos ruminais e aumentando a digestão (Berger et al., 1994).

Cabe salientar que no presente estudo, a amonização do feno promoveu uma solubilização parcial dos constituintes da parede celular, o que, provavelmente, resultou em incremento no conteúdo de carboidratos prontamente digestíveis (Van Soest, 1994). A amonização do feno também promoveu um aumento no conteúdo de nitrogênio disponível, o que por sua vez também favorece a ação dos microrganismos ruminais, aumentando a digestibilidade do feno.

Para determinação da DIVMS do feno, utilizou-se a técnica proposta por Tilley & Terry (1963), que considera como digerida a porção não recuperada após as etapas de fermentação e digestão com pepsina ácida. Portanto é importante salientar que no presente estudo não ocorreu solubilização significativa da lignina, bem como não se detectou a formação de produtos da reação de Maillard (o teor de NIDA não foi alterado), os quais seriam considerados como digeridos pela técnica da digestão “*in vitro*”, promovendo uma superestimativa dos valores de digestibilidade (Van Soest & Mason, 1991).

Conclusões

A amonização via uréia proporcionou melhoria no valor nutritivo do feno de capim-braquiária, o que pode ser comprovado pela elevação no teor de nitrogênio disponível e na DIVMS, bem como pela redução dos conteúdos de FDN e FDA, e das relações NIDN/NT e NIDA/NT.

Recomenda-se a adição de 7% de uréia (base da MS), visto que esse nível proporcionou máxima digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

Referências Bibliográficas

- BERGER, L.L.; FAHEY JR., G.C.; BOURQUIM, L.O. et al. Modification of forage quality after harvest. In: FAHEY JR., G.C. et al. (Ed.). **Forage quality, evaluation e etilization**. Medison: American Society of Agronomy, 1994. p.922-966.
- BROWN, W.F.; ADJEL, M.B., Urea ammoniation effects on the nutritive value of Guineagrass (*Panicum maximum*) hay. **Journal Animal Science**, v.73, p.3085-3093, 1995.
- BURNS, J.C. Balancing forage quality and quantity. In: **Advances in hay, silage and pastures quality**. American Forage and Grassland Council, (Lexington, Kentucky), p. 8-23, 1978.
- CAMPOS, M.C.L. **Níveis de amônia anidra e períodos de amonização sobre a composição químico-bromatológica e degradabilidade dos fenos de alfafa (*Medicago sativa* L.) e coast-cross (*Cynodon dactylon* (L.) Pers. Cv. Coast-cross) com alta umidade**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1995. 130p. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1995.
- CÂNDIDO, M.J.D.; NEIVA, J.N.M.; PIMENTEL, J.C.M. et al. Avaliação do valor nutritivo do bagaço de cana-de-açúcar amonizado com uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.5, p.928-935, 1999.
- CARDOSO, G.C. **Desempenho de novilhos simental alimentados com rações contendo palhada de arroz amonizada, silagem de sorgo, cana-de-açúcar e uréia**. Viçosa: UFV, 2000. 50p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2000.
- DIAS-DA-SILVA, A.A., SUNDSTØL, F. Urea as a source of ammonia for improving the nutritive value of wheat straw. **Animal Feed Science and Technology**, v.14, p.67-79, 1986.
- FAHMY, S.T.M.; KLOPFENSTEIN, T.J. Treatment with different chemicals and their effects on the digestibility of maize stalks. 2. Intake and in vivo digestibility as affected by chemical treatment and monensin supplementation. **Animal Feed Science and Technology**, v.45, n.3/4, p. 309-316, 1994.
- FERNANDES, L.O.; REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A. et al. Qualidade do feno de *Brachiaria decumbens* Stapf. submetido ao tratamento com amônia anidra ou uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p. 1325-1332, 2002.
- GRANZIN, B.C.; DRYDEN, G.McL. Effects of alkalis, oxidants and urea on the nutritive value of rhodes grass (*Chloris gayana* cv. Callide). **Animal Feed Science and Technology**, v.103, p.113-122, 2003.
- HAI, N.V.; SINGH, G.P. Effect of ammoniation through urea treatment of oat straw on the rumen degradability of fibre. **Indian Journal of Dairy Science**, v.47, n.3, p.176-180, 1994.
- KLOPFENSTEIN, T.J. Chemical treatment of crop residues. **Journal Animal Science**, v.46, n.3, p.841-848, 1978.

- LEAL, M.; SHIMADA, A.; HERNÁNDEZ, E. The effect of NH₃ and/or SO₂ on the compositional and histological characteristics of sorghum stover. **Animal Feed Science and Technology**, v.47, p.141-150, 1994.
- REDDY, D.V.; RAMACHANDRA REDDY, R.; SUBRA REDDY, K.V. Effect of urea-ammoniation of moist sorghum hay chemical composition and degradation kinetics. **Indian Journal of Dairy Science**, v.10, n.1, p.45-48, 1993.
- REIS, R. A.; RODRIGUES, L.R.A.; PEREIRA, J.R.A. et al. Composição química e digestibilidade de fenos tratados com amônia anidra ou uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.666-673, 2001a.
- REIS, R. A.; RODRIGUES, L.R.A.; RESENDE, K.T. et al. Avaliação de fontes de amônia para o tratamento de fenos de gramíneas tropicais. 1. Constituintes da parede celular, poder tampão e atividade ureática. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.674-681, 2001b.
- REIS, R. A.; RODRIGUES, L.R.A.; RESENDE, K.T. et al. Avaliação de fontes de amônia para o tratamento de fenos de gramíneas tropicais. 2. Compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.682-686, 2001c.
- REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A.; RIGGIERI, A.C. et al. Avaliação de fontes de amônia para o tratamento de fenos de gramíneas tropicais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998b. p.563-565.
- REIS, R.A.; ROSA, B.; MOREIRA, A.L. Tratamento químico de volumosos: amonização. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa, 2002. p.407-436.
- ROSA, B.; REIS, R.A.; RESENDE, K.T. et al. Valor nutritivo do feno de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. basilisk submetido a tratamento com amônia anidra e uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.4, p.815-822, 1998.
- SARMENTO, P.; GARCIA, R.; PIRES, A.J.V. et al. Tratamento do bagaço de cana-de-açúcar com uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.6, p.1203-1208, 1999.
- SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT User's Guide**. Version 6.4 ed., V.1, Cary, NC:SAS Institute Inc. 943p. 1990.
- SEIFFERT, N. F. Produção de feno com forrageiras de verão. **Informe Agropecuário**, v.6, n.64, p.8-11, 1988.
- SHEN, H.S.; NI, D.B.; SUNDSTOL, F. Studies on untreated and urea-treated rice straw from three cultivation seasons: 1. Physical and chemical measurements in straw and straw fractions. **Animal Feed Science and Technology**, v.73, p.243-261, 1998.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 2002. 235p.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: 11. Carbohydrate and protein availability. **Journal Animal Science**, v.70, n.10, p.3562-3577, 1992.

- SOUZA, A.L.; GARCIA, R.; PEREIRA, O.G. et al. Composição químico-bromatológica da casca de café tratada com amônia anidra e sulfeto de sódio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3 (suplemento1), p.983-991, 2001.
- TILLEY, J.A.; TERRY, A.R. A two-stage technique for *in vitro* digestion of forage crops. **Journal British Grassland Society**, v.18, n.1, p.104-111, 1963.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- VAN SOEST, P.J.; FERREIRA, A.M.; HARTLEY, R.D. Chemical properties of fibre in relation to nutritive quality of ammonia-treated forages. **Animal Feed Science and Technology**, v.10, n.2, p.156-164, 1984
- VAN SOEST, P.J.; MASON, V.C. The influence of Maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.32, n.1/3, p.45-53, 1991.

**Degradação de tecidos foliares de feno de *Brachiaria decumbens* Stapf.
tratado com uréia e submetido a digestão *in vitro*.**

RESUMO – Avaliou-se a degradação de tecidos foliares do feno de capim-braquiária tratado com diferentes níveis de uréia (0, 2, 4 e 8% base da MS) e submetido à diferentes tempos de digestão *in vitro* (0, 6, 12, 24 e 72 horas). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, num arranjo fatorial 4 x 5 com três repetições. O feno tratado ou não com uréia foi armazenado em sacos plásticos (2kg feno/saco) por 35 dias e, após abertura foram coletadas amostras para as análises anatômicas. Coletou-se a primeira folha completamente expandida, contada a partir do ápice do perfilho. Foram retirados segmentos de aproximadamente 2mm da porção mediana da lâmina foliar, os quais foram seccionados transversalmente em micrótomo de gelo obtendo-se seções de 20 µm de espessura. As seções foram montadas em fita adesiva dupla-face, previamente aderida à lâmina de microscópio. As lâminas contendo as seções foram colocadas em tubos contendo uma mistura de solução tampão e líquido ruminal na proporção 2:1, submetidas à digestão *in vitro* e retiradas nos tempos pré-estabelecidos. As seções foram então coradas e fotografadas e estimou-se a proporção de cada tecido na seção transversal das lâminas foliares. Verificou-se que o feno tratado com uréia apresentou menor proporção de tecidos na seção transversal da lâmina foliar, demonstrando que o tratamento promoveu a desestruturação da parede celular, facilitando o acesso dos microorganismos ruminais e aumentando a digestão dos tecidos. O feno tratado com 8% de uréia e submetido à 24 ou 72 horas de digestão apresentou a menor proporção de tecidos com parede celular espessa e lignificada como bainha do feixe vascular (BFV) e esclerênquima. A amonização também reduziu o tempo necessário para degradação dos tecidos, verificando-se que o feno tratado com uréia e submetido à 12 horas de digestão apresentou a mesma proporção de tecidos remanescentes observada no feno não-tratado e submetido à 24 ou 72 horas de digestão. Os tecidos que apresentaram a menor degradação após a digestão foram epiderme e feixe vascular lignificado, não sofrendo modificações significativas causadas pelo tratamento com uréia ou pelos tempos de digestão.

Palavras – chave: amonização, *Brachiaria decumbens* Stapf., digestibilidade, análises histológicas, microscopia de luz.

Leaf tissues degradation of *Brachiaria decumbens* Stapf. hay treated with urea and submitted to *in vitro* digestion.

ABSTRACT – The experiment was conducted to determine the effects of treatment with urea at 0, 2, 4 or 8% of the forage dry matter on the leaf tissues degradation of Signal grass hay submitted to different times of *in vitro* digestion (0, 6, 12, 24 or 72 hours). A completely randomized design in a 4 x 5 factorial arrangement with three replicates was used. The material was stored in plastic bags (2kg hay/plastic bag) for 35 days and after plastic bags opening, samples were collected for histological analysis. The first leaf completely expanded was collected and segments (2mm) were cut from the center portions of leaf blades. The segments were sectioned 20µm thick on a criomicrotome and the sections were dropped in a microscope slide mounted with transparent double-stick tape. The slides were transferred to jars with rumen fluid inoculum and then were removed at selected digestion times. The sections were stained, photographed and tissue percentages were estimated. The urea-treated hay presented the smaller proportion of tissue measured in the transversal section of leaf blades, displayed that urea treatment was efficient in disrupting cell wall structure enhancing microbial degradation. The hay treated with urea 8% and submitted to *in vitro* digestion for 24 or 72 hours showed the smallest proportion of tissues with thick and lignified cell walls like parenchyma bundle sheath (PBS) and sclerenchyma. The urea treatment also reduced the period of time necessary to tissues degradation. The urea-treated hay submitted to *in vitro* digestion for 12 hours showed the same proportion of remaining tissues found to untreated hay submitted to 24 or 72 hours of *in vitro* digestion. The epidermis and lignified vascular tissue showed the smallest degradation after *in vitro* digestion. Knowledge about histological changes of feeds may help to understand how different fractions, tissues and cell walls respond to urea treatment.

Keywords: ammoniation, *Brachiaria decumbens* Stapf., digestibility, histological analysis, light microscopy.

Introdução

Os fenos produzidos a partir de gramíneas de clima tropical, colhidas no estágio de pós-florescimento, bem como as palhadas, obtidas após a colheita de grãos de cereais e sementes de gramíneas forrageiras, são alimentos essencialmente energéticos, de baixo teor protéico e mineral, baixa digestibilidade e baixo consumo voluntário.

Apesar de estes produtos serem considerados uma boa alternativa para a alimentação dos rebanhos no período de escassez de forragem, geralmente, possuem características que limitam o seu aproveitamento pelos animais. Dentre essas características pode-se citar o elevado conteúdo de parede celular, alto teor de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), teor elevado de lignina, baixa disponibilidade de compostos nitrogenados e baixa digestibilidade da matéria seca (Reis & Rodrigues, 1993).

A parede celular consiste de uma mistura complexa de polissacarídeos e outros polímeros que são produzidos pela célula formando uma estrutura organizada, unidos por uma mistura de ligações covalentes e não covalentes. A parede também contém proteínas estruturais, enzimas, polímeros fenólicos e outras substâncias que modificam as características estruturais da mesma (Taiz & Zeiger, 1998).

Do ponto de vista nutricional, a parede celular pode ser considerada a principal fonte de energia para os ruminantes em todo mundo. Esta compreende 20 a 80% do peso seco da forragem e é composta, principalmente, de hemicelulose, pectina, celulose e lignina. Portanto, maximizar o ganho de energia a partir da parede celular é importante para aumentar a eficiência da produção animal (Wilson, 1994).

A parede celular é composta por três camadas distintas. A lamela média, formada por substâncias pécticas, é a camada mais externa e divide as paredes de células contíguas, exercendo uma função cimentante entre as células (Brett & Waldron, 1996). A parede primária, depositada internamente à lamela média, é formada por microfibrilas de celulose embebidas em uma matriz amorfa composta por polissacarídeos como as hemiceluloses e as pectinas. A parede secundária, interna à parede primária, é constituída por três camadas (S1, S2 e S3), que se distinguem pela diferente orientação das microfibrilas de celulose (Wilson, 1993).

O espessamento da parede celular e a deposição de lignina ocorrem da região da parede primária em direção ao lúmen celular. A concentração de lignina é maior na lamela média e na parede primária, mas devido a sua espessura a parede secundária contém a maior parte da lignina presente na planta (Wilson, 1993).

O conteúdo de parede celular (CPC) de uma forrageira é nutricionalmente importante, pois os alimentos com alto CPC apresentam menor digestibilidade e menor consumo pelos ruminantes (Minson, 1990). Além disso, os tipos de ligações que formam os polissacarídeos, a espessura da parede e a deposição de lignina são fatores que podem aumentar sua resistência e, em consequência, reduzir a disponibilidade de sua energia para os ruminantes (Wilson, 1994).

Os principais tipos de tecidos que compõem a estrutura das gramíneas são: epiderme, parênquima clorofiliano e fundamental (mesofilo), bainha do feixe vascular, tecido vascular (xilema e floema) e esclerênquima (Wilson, 1994).

Trabalhos realizados com gramíneas forrageiras submetidas à digestão in vitro, demonstraram que os diferentes tecidos da planta apresentam taxas de digestão diferenciada. De acordo com sua facilidade de digestão eles podem ser classificados, em ordem decrescente, como segue: mesofilo, floema, bainha do feixe vascular, epiderme, esclerênquima e tecido vascular lignificado (Akin, 1989; Wilson, 1993).

Em geral, as células do mesofilo e as do floema, com parede celular primária delgada, são rapidamente digeridas (Akin et al., 1983; Chesson et al., 1986). As células da epiderme e da bainha do feixe vascular são reconhecidas como de digestão lenta e parcial (Akin, 1989). Por outro lado, tecidos como o esclerênquima e o xilema, que apresentam parede celular secundária espessa e lignificada, são muito pouco digeridos (Akin, 1989; Wilson, 1993).

A estrutura anatômica característica de gramíneas do tipo C4, como aquelas do gênero *Brachiaria*, com elevada proporção de tecido vascular lignificado, de esclerênquima e de bainha do feixe vascular, compromete o valor nutritivo destas plantas (Wilson, 1997).

O tratamento de volumosos de baixa qualidade nutricional com produtos químicos fontes de amônia, como a uréia, tem sido estudado como uma

alternativa para melhorar o valor nutricional e a digestibilidade desses materiais, permitindo seu melhor aproveitamento pelos ruminantes.

Segundo Goto & Yokoe (1996), existem dois efeitos distintos que, juntos, podem explicar a ação da amônia sobre a estrutura dos tecidos vegetais aumentando a degradabilidade do material tratado. O primeiro diz respeito a amônia agindo como um álcali e promovendo rompimentos nos interpolímeros que ligam estruturas contendo ligações do tipo éster. Isso resultaria em rompimento da estrutura da parede celular e aumento na sua hidratação. O segundo, refere-se à habilidade da amônia formar complexos com a celulose, reduzindo sua cristalinidade, através do rompimento de pontes de hidrogênio; aumentando sua fragilidade; e proporcionando melhor digestão enzimática. Esses fatores, em conjunto, promovem fragmentação mais rápida do material ingerido e melhoram a eficiência dos microorganismos ruminais no ataque às partículas do alimento.

As técnicas de anatomia vegetal podem ser utilizadas para avaliar a estrutura da planta e o comportamento dos tecidos submetidos à digestão, complementando as informações obtidas nas análises bromatológicas convencionais, de forma a elucidar os fatores que afetam a degradação das forrageiras pelos microorganismos ruminais. Além disso, a avaliação anatômica da degradação dos tecidos vegetais submetidos à digestão, pode contribuir para explicar o efeito de alguns tratamentos químicos, como a amonização, na melhoria da qualidade dos volumosos tratados.

Com esse trabalho objetivou-se avaliar a degradação de tecidos foliares do feno de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf.) tratado com diferentes níveis de uréia e submetido à digestão *in vitro*.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido nas dependências do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa-MG, no período de 12 de dezembro de 2002 a 16 de janeiro de 2003. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal e no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 5 (quatro níveis de uréia e cinco períodos de incubação), com três repetições.

O feno foi produzido com o capim-braquiária, colhido no estágio de pós-florescimento.

Os tratamentos utilizados foram a amonização do feno com 0, 2, 4 ou 8% de uréia, com base na matéria seca, e os tempos de incubação de 0, 6, 12, 24 ou 72 horas, para avaliação da digestão *in vitro* dos diferentes tecidos da planta.

O feno tratado ou não com uréia foi acondicionado em sacos plásticos etiquetados, vedados e armazenados em galpão coberto. As quantidades de uréia utilizadas para amonização do feno foram calculadas de acordo com a quantidade de feno a ser tratado (2 kg feno/saco) e com o teor de matéria seca do material. A uréia foi dissolvida em quantidade suficiente de água para elevar o teor de umidade do feno para 30%. A solução de uréia foi distribuída sobre as camadas de feno, dentro do saco, com o auxílio de um regador.

O material tratado foi armazenado por 35 dias e ao final deste período, os sacos foram abertos e submetidos a um período de aeração de 24 horas, para que a amônia que não reagiu com o material fosse eliminada.

Em seguida procedeu-se a coleta de amostras destinadas às avaliações histológicas, após a homogeneização do material. Coletou-se a primeira folha completamente expandida, contada a partir do ápice do perfilho. Para cada unidade experimental, foram coletadas dez lâminas foliares que, posteriormente, foram congeladas em nitrogênio líquido, embaladas em sacos plásticos e armazenadas em congelador.

As lâminas foliares foram descongeladas e retiradas porções de aproximadamente 2mm de comprimento na região mediana das mesmas. Em seguida, estas porções de lâmina foliar foram colocadas em solução de sacarose 2,3M por 12 horas, para crioproteção. Estas foram seccionadas transversalmente com 20 µm de espessura em micrótomo de congelamento. Aproximadamente 12 seções de cada unidade experimental foram montadas em fita adesiva dupla-face, previamente aderida às lâminas histológicas (Akin, 1982).

O ensaio de digestibilidade *in vitro* foi realizado de acordo com a técnica proposta por Tilley & Terry (1963), com modificações sugeridas por Akin

(1982). As lâminas histológicas com os cortes foram colocadas em tubos de vidro (2 lâminas/tubo), contendo uma mistura de solução tampão de McDougall e líquido ruminal na proporção 2:1, sob condição de anaerobiose. No tratamento sem digestão (SD), as lâminas foram mantidas em tubos contendo apenas a solução tampão de McDougall, até o final do ensaio de digestibilidade (Akin et al., 1973).

Ao final de cada período de digestão, as lâminas foram retiradas dos tubos e lavadas em água destilada. Os cortes foram corados com azul de astra e fucsina básica e as lâminas cobertas com lamínula, utilizando-se gelatina glicerizada como meio de montagem.

Foram obtidas imagens digitalizadas das seções transversais de lâmina foliar, através de câmera filmadora analógica acoplada a um fotomicroscópio. Para evidenciar os sítios de lignificação da folha, foram obtidas imagens utilizando-se a luz polarizada.

A área de cada tecido remanescente, assim como as medidas lineares, após a digestão *in vitro* das seções transversais, foram calculadas através do programa computacional Image – Pro Plus.

Na seção transversal da lâmina foliar, numa região compreendida entre dois feixes vasculares de primeira ordem, foram determinadas as seguintes características anatômicas: área do mesofilo (parênquima clorofiliano e incolor + células biliformes), da epiderme da face adaxial, da epiderme da face abaxial, do tecido vascular lignificado (xilema + fibras associadas), do floema e do esclerênquima e o comprimento (μm) das paredes externa, radial e interna das células da bainha do feixe vascular. Os dados de área foram transformados em porcentagem, em relação à área total da seção transversal.

Os dados referentes à proporção de tecidos remanescentes nas seções transversais das lâminas foliares, após a digestão *in vitro*, foram submetidos à análise estatística, utilizando-se o método multivariado de Análise de Componentes Principais (Sneath & Sokal, 1973), procurando-se agrupar os tratamentos de acordo com seu grau de similaridade.

A Análise de Componentes Principais (ACP) é usada para a avaliação das interrelações de um grande número de variáveis, com o objetivo de condensar as informações mais importantes em um número pequeno de variáveis, com perda mínima de informações. Assim, a ACP permite verificar a capacidade discriminatória das variáveis originais no processo de formação dos

agrupamentos, sendo empregada para reduzir o conjunto de indicadores a duas novas variáveis não correlacionadas, que são os componentes principais, indicados por Y_1 e Y_2 .

A análise estatística foi realizada utilizando-se os procedimentos de análise de componentes principais (PRINCOMP) do sistema para análises estatísticas SAS (1990).

Resultados e Discussão

Na Figura 1A podem ser observados os tecidos avaliados na seção transversal da lâmina foliar do feno de capim-braquiária. Na Figura 1B, a imagem da seção transversal da lâmina foliar foi obtida utilizando-se luz polarizada, que evidencia os sítios de lignificação nos tecidos, principalmente do tecido vascular e do esclerênquima, em destaque nas áreas mais claras da referida figura.

As paredes celulares espessas e lignificadas, observadas nas células do xilema, esclerênquima e bainha do feixe vascular têm como característica marcante a grande resistência à degradação microbiana no rúmen (Akin, 1989). Esses tecidos formam uma barreira estrutural à digestão, sendo pouco digeridos devido à lignificação e a dificuldade de acesso dos microorganismos ruminais à superfície da parede celular (Wilson, 1994).

Os valores médios da proporção de tecidos avaliados na seção transversal da lâmina foliar nos diferentes níveis de uréia e tempos de digestão *in vitro*, encontram-se na Tabela 1. Pode-se observar a tendência de redução na proporção de tecidos foliares em função dos níveis de uréia e dos tempos de digestão.

A Figura 2 apresenta um perfil da configuração anatômica das seções transversais da folha do feno de capim-braquiária tratado com diferentes níveis de uréia e submetido à diferentes tempos de digestão *in vitro*. Observa-se que ocorreu aumento na degradação dos tecidos em função dos tempos de digestão e dos níveis de uréia.

Na Figura 3 encontra-se um perfil das seções transversais de folhas cujas imagens foram obtidas utilizando-se luz polarizada. Observa-se que os tecidos

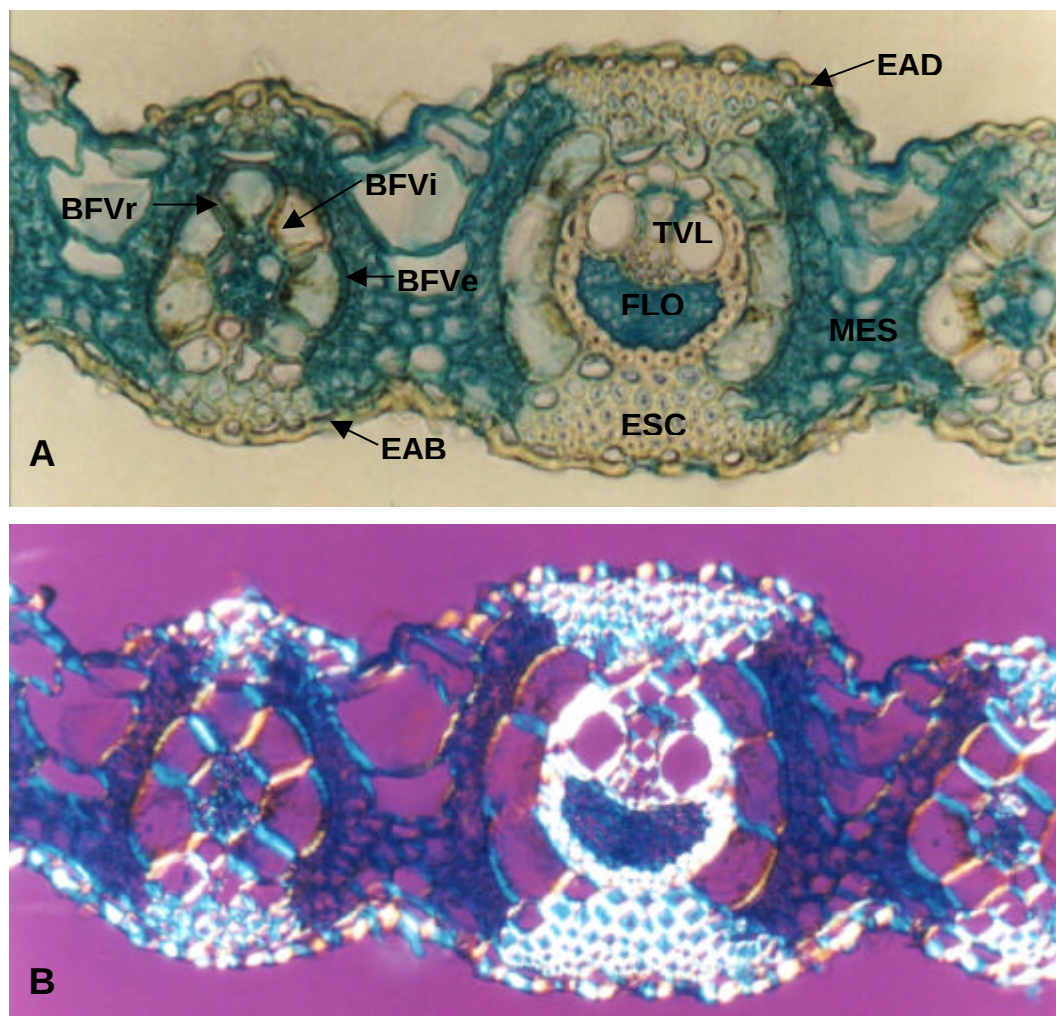


Figura 1. Seção transversal da lâmina foliar do feno de capim-braquiária com as indicações dos tecidos mensurados (A) evidenciando as áreas de maior lignificação nos tecidos através da luz polarizada (B). Mesofilo (MES); Floema (FLO); Tecido vascular lignificado (TVL); Esclerênquima (ESC); Epiderme adaxial (EAD); Epiderme abaxial (EAB); parede externa da célula da bainha do feixe vascular (BFVe); parede interna da célula da bainha do feixe vascular (BFVi); parede radial da célula da bainha do feixe vascular (BFVr).

Tabela 1. Valores médios observados da proporção de tecidos remanescentes na seção transversal de lâminas foliares de feno de capim-braquiária tratado com diferentes níveis de uréia e submetido à diferentes tempos de digestão *in vitro*. Mesofilo (MES); floema (FLO); tecido vascular lignificado (TVL); esclerênquima (ESC); epiderme da face abaxial (EAB); epiderme da face adaxial (EAD); paredes externa, interna e radial da bainha do feixe vascular (BFVe, BFVi, BFVr).

Tratamentos		MES (%)	FLO (%)	TVL (%)	ESC (%)	EAB (%)	EAD (%)	BFVe (µm)	BFVi (µm)	BFVr(µm)
Uréia (%)	Digestão (horas)									
0	SD ¹	49,86	2,21	5,64	8,55	6,15	3,27	2,47	1,37	1,03
0	6	46,74	1,61	5,48	7,55	5,94	2,52	2,33	1,29	0,98
0	12	16,81	0,00	5,27	6,04	6,34	2,11	2,37	1,26	0,87
0	24	5,73	0,00	5,45	3,46	6,27	1,53	1,70	0,84	0,38
0	72	7,41	0,00	4,96	2,76	5,97	1,52	1,52	0,90	0,38
2	SD	50,88	1,65	4,83	6,64	6,23	4,15	2,35	1,14	0,96
2	6	47,57	1,35	4,39	5,42	6,10	4,35	2,44	1,22	0,87
2	12	17,46	0,00	3,96	3,67	5,06	3,06	1,59	1,17	0,76
2	24	7,75	0,00	3,88	1,65	3,84	2,31	1,57	0,66	0,41
2	72	3,47	0,00	3,67	1,00	4,01	2,41	1,37	0,45	0,36
4	SD	50,63	1,85	4,31	6,75	5,40	4,25	2,39	1,14	0,98
4	6	48,81	1,40	4,61	6,61	5,60	4,21	2,34	1,16	0,99
4	12	16,85	0,00	4,04	2,68	5,25	2,91	2,29	1,02	0,88
4	24	9,66	0,00	3,73	0,92	4,36	2,36	1,68	0,57	0,37
4	72	5,28	0,00	3,40	1,11	3,45	2,34	1,36	0,48	0,26
8	SD	47,63	1,97	4,78	7,80	6,08	4,23	2,50	1,23	1,03
8	6	45,32	0,88	4,63	7,55	5,99	4,26	2,54	1,28	0,92
8	12	13,08	0,00	3,92	5,07	4,76	2,83	1,43	0,76	0,48
8	24	8,09	0,00	3,34	1,08	2,52	1,69	1,13	0,36	0,19
8	72	2,16	0,00	3,17	1,33	1,74	1,54	0,91	0,25	0,12

¹ sem digestão

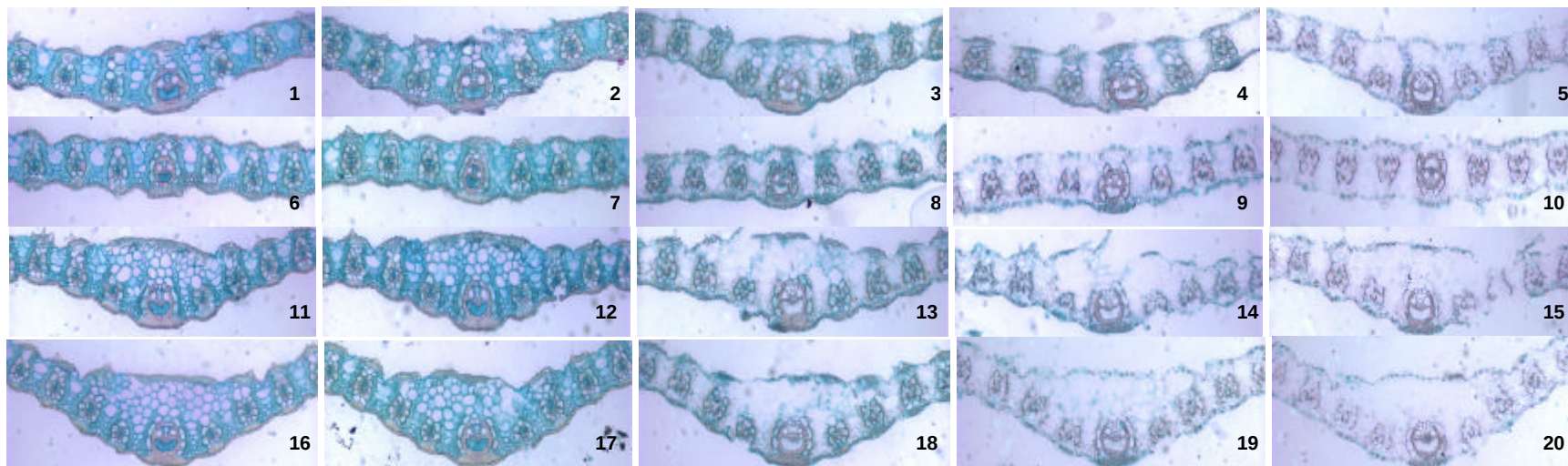


Figura 2. Seções transversais da lâmina foliar do feno de capim-braquiária tratado com diferentes níveis de uréia e submetido à diferentes tempos de digestão *in vitro*. **1** – controle (C) sem digestão (SD); **2** - C 6h; **3** – C 12h; **4** - C 24h; **5** - C 72h; **6** – Uréia (U) 2% SD; **7** – U2% 6h; **8** – U2% 12h; **9** – U2% 24h; **10** – U2% 72h; **11**- U4% SD; **12** – U4% 6h; **13** – U4% 12h; **14** – Uréia 4% 24h; **15** – U4% 72h; **16** – U8% SD; **17** – U8% 6h; **18** – U8% 12h; **19** – U8% 24h; **20** – U8% 72h. (h = horas de digestão)

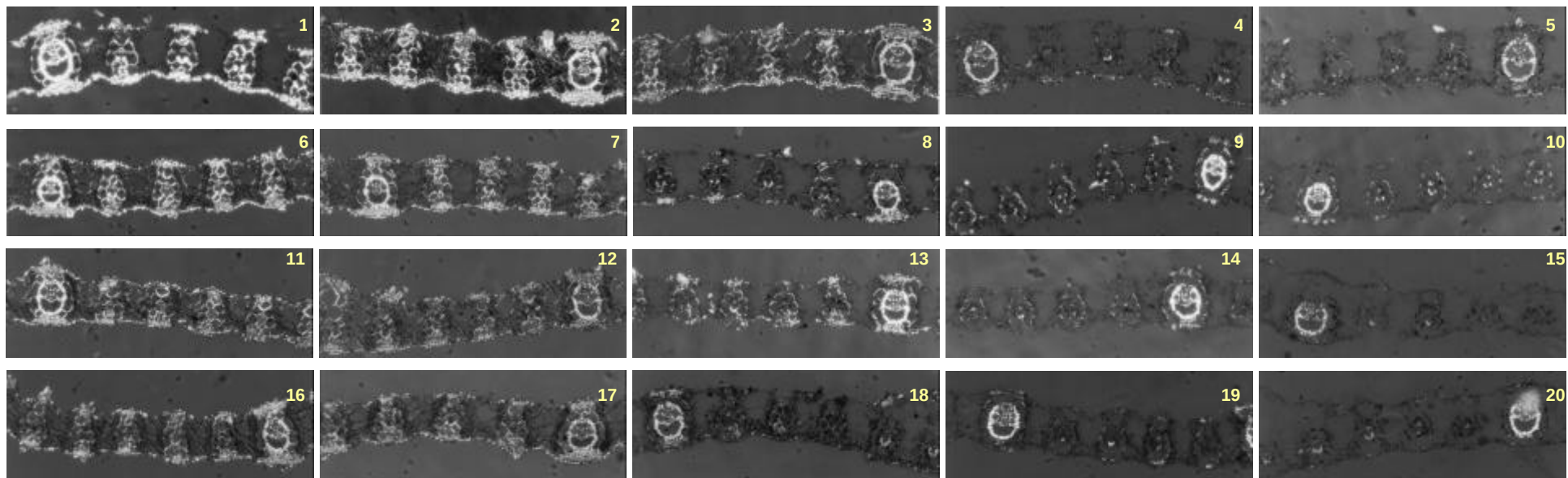


Figura 3. Seções transversais da lâmina foliar do feno de capim-braquiária tratado com diferentes níveis de uréia e submetido à diferentes tempos de digestão, fotografadas com luz polarizada indicando os sítios de lignificação, denotados pelas áreas mais claras e brilhantes. **1** – controle (C) sem digestão (SD); **2** - C 6h; **3** - C 12h; **4** - C 24h; **5** – C 72h; **6** – Uréia (U) 2% SD; **7** – U2% 6h; **8** – U2% 12h; **9** – U2% 24h; **10** – U2% 72h; **11**- U4% SD; **12** – U4% 6h; **13** – U4% 12h; **14** – U4% 24h; **15** – U4% 72h; **16** – U8% SD; **17** – U8% 6h; **18** – U8% 12h; **19** – U8% 24h; **20** – U8% 72h. (h = horas)

com maior grau de lignificação, como o tecido vascular, esclerênquima e bainha do feixe vascular, aparecem como áreas mais claras e brilhantes. Percebe-se também que de acordo com o aumento dos níveis de uréia e dos tempos de digestão *in vitro*, ocorreu redução na proporção desses tecidos. Isto demonstra a degradação em tecidos como o esclerênquima e a bainha do feixe vascular, a qual é evidenciada pela menor intensidade ou pela ausência de brilho nestes tecidos.

As correlações entre as nove variáveis originais (características anatômicas) e os dois primeiros componentes principais (Y_1 e Y_2), resultantes da análise de componentes principais são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Correlações entre as nove variáveis originais referentes à anatomia da seção transversal da lâmina foliar do feno de capim-braquiária, e os dois primeiros componentes principais (Y_1 e Y_2). Porcentagem de informação retida e acumulada em Y_1 e Y_2 , e ordenação das variáveis quanto ao seu poder discriminatório.

Variáveis	Y_1	Ordem	Y_2	Ordem
Mesofilo (%)	0,934	5	-0,305	5
Floema (%)	0,857	6	-0,307	4
Tecido vascular lignificado (%)	0,751	9	0,615	1
Esclerênquima(%)	0,947	4	0,013	8
Epiderme da face abaxial (%)	0,845	7	0,446	3
Epiderme da face adaxial (%)	0,785	8	-0,542	2
Parede interna das células da bainha do feixe vascular (μm)	0,954	2	0,011	9
Parede externa das células da bainha do feixe vascular (μm)	0,948	3	0,189	6
Parede radial das células da bainha do feixe vascular (μm)	0,962	1	-0,071	7
Informação Retida (%)	79,27		12,22	
Informação Acumulada (%)	79,27		91,49	

Devido ao alto valor da informação retida em Y_1 (79,27%), esse primeiro componente principal foi suficiente para explicar a contribuição das variáveis

originais analisadas, para as três repetições dos vinte tratamentos estudados. Para o segundo componente principal (Y_2), a análise dos dados da Tabela 2 revela que a informação retida de 12,22%, cujo valor é considerado baixo e, torna este segundo componente desprezível para explicar a contribuição das variáveis originais analisadas nos diferentes tratamentos estudados.

Para o componente principal Y_1 as variáveis com maior poder discriminatório, em ordem decrescente de importância foram: comprimento das paredes radial, interna e externa das células da bainha do feixe vascular; área do esclerênquima; área do mesofilo; área do floema; área da epiderme da face abaxial; área da epiderme da face adaxial e área do tecido vascular lignificado.

O maior poder discriminatório observado para o comprimento de parede das células da bainha do feixe vascular (BFV) e para a área de esclerênquima, indica que essas variáveis foram as que apresentaram a maior variação em função dos tratamentos, sendo seu comportamento utilizado para a interpretação dos resultados obtidos no ensaio experimental.

A interpretação da dispersão gráfica dos componentes principais, observada na Figura 4, possibilita a formação de grupos entre os tratamentos que apresentam a maior similaridade quanto às características dos tecidos na seção transversal da lâmina foliar, como segue: Grupo I – constituído pelo material não tratado ou tratado com 2, 4, e 8% de uréia, não submetido à digestão ou submetido à 6 horas de digestão *in vitro*; Grupo II – constituído pelo material tratado com 2, 4 e 8% de uréia, submetido à 24 ou 72 horas de digestão *in vitro*; Grupo III – constituído pelo material não tratado com uréia e submetido aos tempos de 12, 24 e 72 horas de digestão e pelo material tratado com 2, 4 e 8% de uréia submetido à 12 horas de digestão *in vitro*.

Utilizando-se o componente principal Y_1 , observa-se que para o grupo I, independente do nível de uréia, até seis horas de digestão há grande quantidade de tecidos remanescentes nas seções transversais de folha, principalmente, parede celular da bainha do feixe vascular (BFV) e esclerênquima, uma vez que estas variáveis apresentam elevado coeficiente de correlação. Com seis horas de incubação a degradação dos tecidos é mínima, observando-se apenas o início da degradação em tecidos com células de parede primária delgada como o floema e mesofilo (Akin, 1973).

Na Figura 4, observando-se o grupo II, constata-se que todos os tratamentos com pelo menos 2% de uréia, a partir de 24 horas de digestão

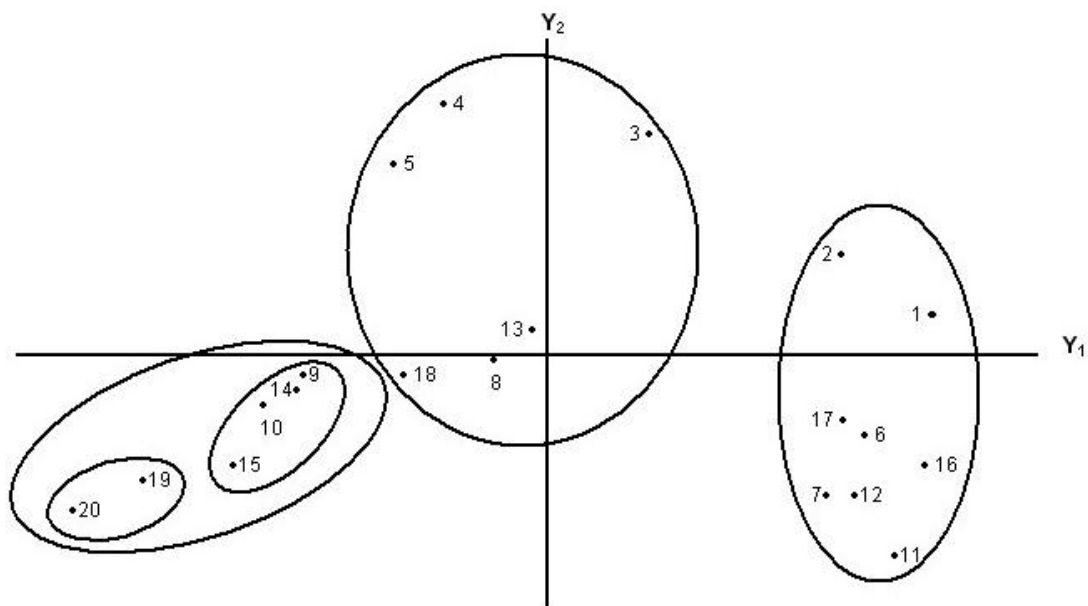


Figura 4. Dispersão gráfica dos níveis de uréia e dos tempos de digestão *in vitro* do feno de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf.), utilizando-se os dois componentes principais (Y1 e Y2), para o conjunto de nove variáveis referentes à anatomia da seção transversal da lâmina foliar. Níveis de uréia e tempos de digestão: **1** – controle (C) sem digestão (SD); **2** – C 6h; **3** – C 12 h; **4** – C 24 h; **5** – C 72 h; **6** – U2% SD; **7** – U2% 6 h; **8** – U2% 12 h; **9** – U2% 24 h; **10** – U2% 72 h; **11** – U4% SD; **12** – U4% 6 h; **13** – U4% 12 h; **14** – U4% 24 h; **15** – U4% 72 h; **16** – U8% SD; **17** – U8% 6 h; **18** – U8% 12 h; **19** – U8% 24 h; **20** – U8% 72 h. (h = horas de digestão)

apresentaram grande degradação dos tecidos. Verifica-se que a maior taxa de degradação, principalmente das paredes das células da BFV e do esclerênquima, ocorreu nos tratamentos com 8% de uréia. Isso sugere que a amônia produzida a partir da uréia promoveu uma fragilização da parede celular dos tecidos aumentando a degradação dos mesmos.

A amônia, quando utilizada no tratamento de volumosos, caracteriza-se por promover uma desestruturação da parede celular através do rompimento de ligações entre os polissacarídeos e entre estes e a lignina, aumentando a hidratação e a fragilidade da parede. Essa desestruturação facilitaria o acesso dos microrganismos ruminais à superfície da parede celular, aumentando a degradação dos tecidos no rúmen e o aproveitamento dos alimentos pelos animais (Goto & Yokoe, 1996). Este efeito da amônia pode explicar em parte o aumento da digestão de tecidos com parede celular espessa e lignificada como

o esclerênquima e as células da bainha do feixe vascular, observado no feno tratado com uréia.

Outro ponto que deve ser considerado é o fato de que as gramíneas do tipo C4, como o capim-braquiária, apresentam uma alta eficiência de uso do nitrogênio, o que implica num baixo teor de proteína nas plantas. Este baixo teor de proteína, geralmente, é insuficiente para suprir as exigências dos microrganismos ruminais e garantir sua máxima eficiência (Wilson & Hattesley, 1983). A uréia é considerada uma fonte de nitrogênio não-protéico e seu uso no tratamento do feno de capim-braquiária também pode ter contribuído para suprir as necessidades dos microrganismos ruminais, aumentando sua eficiência na digestão dos tecidos.

As células da BFV contêm grande proporção de proteína e amido, sendo consideradas uma fonte importante de compostos facilmente digestíveis nas gramíneas tropicais. Estas células concentram a maior parte da enzima RUDP carboxilase (rubisco), a qual representa aproximadamente 50% da proteína solúvel nas folhas de gramíneas C4 (Wilson, 1997). A desestruturação da parede celular das células da BFV, causada pelo tratamento com uréia, pode contribuir para a disponibilização dos compostos facilmente digestíveis contidos nestas células, para os microrganismos ruminais.

A fragilização da parede celular e o aumento significativo da digestibilidade *in vitro* do material amonizado também foram observados por Leal et al. (1994) e Goto et al. (1993), trabalhando com palhada de sorgo e de cevada, respectivamente. Shen et al. (1999), trabalhando com palhada de arroz tratada com uréia, verificaram que a amonização promoveu a expansão do parênquima e o rompimento parcial da parede celular do tecido vascular, contribuindo para a melhoria da digestibilidade da palhada.

Os tratamentos que compõem o grupo III (Figura 3), apresentaram quantidade intermediária de tecidos remanescentes após a digestão *in vitro*. Os tempos de 12 horas de digestão para o material tratado com 2, 4 e 8% de uréia e de 12, 24 e 72 horas para o material não tratado, não foram suficientes para garantir uma degradação efetiva dos tecidos, principalmente esclerênquima e bainha do feixe vascular.

Pela observação do grupo III também pode-se concluir que o tratamento com uréia contribuiu para diminuir o tempo necessário para a degradação dos tecidos. Com 12 horas de digestão a degradação do material tratado com uréia

foi equivalente à degradação do material não tratado, submetido à 24 ou 72 horas de digestão. Isso pode ser justificado pela fragilização da parede celular promovida pela amônia, facilitando o acesso dos microrganismos ruminais, aumentando a colonização microbiana sobre os tecidos (Goto et al.,1993).

Na Tabela 2, observando-se o componente principal Y1 pode-se perceber que as variáveis com menor poder discriminatório foram a epiderme e o tecido vascular lignificado. Estes tecidos apresentaram menor degradação durante o ensaio de digestibilidade, não sofrendo modificações significativas causadas pelo tratamento com uréia ou pelos tempos de digestão. O tecido vascular lignificado, possui células com parede secundária espessa e bastante lignificada, o que dificulta sua degradação pelos microrganismos ruminais (Akin, 1989; Wilson, 1993). As paredes tangenciais externas das células epidérmicas tornam-se espessas e lignificadas em plantas maduras, sendo totalmente cobertas pela cutícula. Estas características, podem fazer com que a superfície externa da epiderme seja impenetrável aos microrganismos ruminais, impedindo sua degradação.

Conclusões

O tratamento do feno de capim-braquiária com uréia afetou a estrutura da parede celular de tecidos como a bainha do feixe vascular e esclerênquima, aumentando a disponibilidade dos polissacarídeos da parede celular, facilitando o acesso dos microrganismos ruminais e aumentando a digestão desses tecidos, bem como reduziu o tempo necessário para sua degradação.

Referências Bibliográficas

- AKIN, D.E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. **Agronomy Journal**, v.81, p. 17-25, 1989.
- AKIN, D.E. Section to slide technique for study of forage anatomy and digestion. **Crop Science**, v.22, p. 444-446, 1982.
- AKIN, D.E.; WILSON, J.R.; WINDHAM, W.R. Site and rate of tissue digestion in leaves of C₃, C₄ and C₃/C₄ intermediate *Panicum* species. **Crop Science**, v.23, p.147-155, 1983.
- BRETT, C.; WALDRON, K. **Physiology and biochemistry of plant cell walls**. 2. ed. Cambridge: Chapman e Hall. 1996. 255p.
- CHESSON, A.; STEWART, C.S.; DALGARNO, K. et al. Degradation of isolated grass mesophyll, epidermis and fiber cell walls in the rumen and by cellulolytic rumen bacteria in axenic culture. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 60, p. 327-336, 1986.
- GOTO, M., YOKOE, Y. Ammoniation of barley straw. Effect on cellulose crystallinity and water-holding capacity. **Anim. Feed Sci. Technol.**, 5893/4):239-247, 1996.
- GOTO, M., YOKOE, Y., TAKABE, K., NISIKAWA, S. MORITA, O. Effects of gaseous ammonia on chemical and structural features of cell walls in spring barley straw. **Anim. Feed Sci. Technol.**, 40(2/3):207-221, 1993.
- LEAL, M.; SHIMADA, A.; HERNÁNDEZ, E. The effect of NH₃ and/or SO₂ on the compositional and histological characteristics of sorghum stover. **Animal Feed Science and Technology**, v.47, n.1/2, p. 141-150, 1994.
- MINSON, D.J. **Forage in ruminant nutrition**. New York: Academic Press, 1990.
- MONSON, W.G.; POWELL, J.G.; BURTON, G.W. Digestion of fresh forage in rumen fluid. **Agronomy Journal**, v.64, p. 231-233, 1972.
- REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A. **Amonização de volumosos**. Jaboticabal: FCAVJ – UNESP/FUNEP, 1993.
- SAS. INSTITUTE INC. 1990. SAS/STAT. User's Guide. Version 6.4 ed., V.1, Cary, NC:SAS Institute Inc. 943p.
- SHEN, H.S.; SUNDSTOL, F.; ENG, E.R. et al. Studies on untreated and urea-treated rice straw from three cultivation seasons: 3. Histological investigations by light and scanning electron microscopy. **Animal Feed Science and Technology**, v.80, p.151-159, 1999.
- SNEATH, P.H.A.; SOKAL, R.R. **Numerical taxonomy**. San Francisco: W.H. Freeman, 1973. 573p.
- TAIZ, L., ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 2nd edition. Sinauer Associates Inc., Publ. 1998, 792p.
- TILLEY, J.A.; TERRY, A.R. A two-stage technique for *in vitro* digestion of forage crops. **Journal British Grassland Society**, v.18, n.1, p.104-111, 1963.
- WILSON, J.R. Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. **Journal of Agriculture Science**, v.122, p. 173-182, 1994.

- WILSON, J.R. Organization of forage plant tissues. In: JUNG, H. G., BUXTON, D. R., HATFIELD, R.D. et al. (Eds.) **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: ASA-CSSA-SSSA, 1993. p. 1-32.
- WILSON, J.R. Structural and anatomical traits of forages influencing their nutritive value for ruminants. In: **Simpósio Internacional sobre Produção Animal em Pastejo**, 1997, Viçosa. Anais... Viçosa: UFV, 1997. p. 173-208.
- WILSON, J.R.; HATTERSLEY, P.W. In vitro digestion of bundle sheath cells in rumen fluid and its relation to the suberized lamella and C₄ photosynthetic type in *Panicum* species. **Grass and Forage Science**, v.38, p. 219-223, 1983.

CONCLUSÕES GERAIS

A amonização via uréia proporcionou melhoria no valor nutritivo do feno de capim-braquiária, o que pode ser comprovado pela elevação nos teores de PB e DIVMS, bem como pela redução dos conteúdos de FDN e FDA, e das relações NIDN/NT e NIDA/NT.

Recomenda-se a adição de 7% de uréia (base da MS), visto que esse nível proporcionou máxima digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

O tratamento do feno de capim-braquiária com uréia afetou a estrutura da parede celular de tecidos como a bainha do feixe vascular e esclerênquima e reduziu o tempo necessário para sua degradação.