

DOMINGOS SÁVIO CAMPOS PACIULLO

CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS E NUTRICIONAIS DE LÂMINAS
FOLIARES E COLMOS DE GRAMÍNEAS FORRAGEIRAS, EM FUNÇÃO DO
NÍVEL DE INSERÇÃO NO PERFILHO, DA IDADE E DA ESTAÇÃO DE
CRESCIMENTO

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2000

À minha mãe Maria Lúcia, pela educação e pelos ensinamentos de vida digna.

À minha esposa Érika, pelo amor, pela paciência e pelo carinho.

À minha filha Beatriz.

AGRADECIMENTO

Ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização deste curso e pelo apoio material para a condução da pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Departamento de Biologia Vegetal, pela oportunidade de realização das análises no Laboratório de Anatomia.

Ao Professor José Alberto Gomide, pela orientação, pelos ensinamentos e pelo apoio constante durante todo o curso.

Aos conselheiros Domingos Sávio Queiroz e Eldo Antônio Monteiro da Silva, pelo apoio e pelas valiosas sugestões.

Aos Professores Augusto César de Queiroz e Aristéa Alves Azevedo, pelas contribuições para este trabalho.

À Zilda e Rosana, do Laboratório de Anatomia, pelo auxílio nas análises.

Aos amigos Alex, Álan, Rodrigo, Guto, Rogério, Emerson e Luiz, pelo convívio e companheirismo.

Aos demais professores, colegas de curso e funcionários do DZO, pela colaboração.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a conclusão deste trabalho.

BIOGRAFIA

DOMINGOS SÁVIO CAMPOS PACIULLO, filho de José Rosário Paciullo e Maria Lúcia Campos Paciullo, nasceu em Juiz de Fora, Minas Gerais, em 02 de janeiro de 1968.

Ingressou na Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL-UFLA) em agosto de 1987, diplomando-se como Engenheiro-Agrônomo em agosto de 1992.

No período de outubro de 1992 a julho de 1994, foi bolsista de Aperfeiçoamento à pesquisa, pelo CNPq, na EMBRAPA – Gado de Leite, Coronel Pacheco – MG, na área de Forragicultura e Pastagens.

Em setembro de 1996, obteve o título de “Magister Scientiae” em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa.

Em outubro de 1996, iniciou o Programa de Pós-graduação em nível de Doutorado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Forragicultura e Pastagens, defendendo tese em agosto de 2000.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO.....	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Tecidos vegetais	4
2.2. Fatores determinantes da anatomia e do valor nutritivo em gramíneas forrageiras.....	5
2.3. Anatomia x valor nutritivo	9
2.4. Componentes químicos e físicos relacionados à digestão da parede celular.....	14
CAPÍTULO 1	20
COMPOSIÇÃO QUÍMICA E DIGESTIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DE LÂMINAS FOLIARES E COLMOS DE GRAMÍNEAS FORRAGEIRAS TROPICAIS	
1. INTRODUÇÃO.....	20
2. MATERIAL E MÉTODOS	23
2.1. Descrição do experimento	23
2.2. Análises químicas.....	26
2.3. Análises estatísticas	26
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
3.1. Colmo	29
3.2. Lâmina foliar	33

4. RESUMO E CONCLUSÕES	42
CAPÍTULO 2	44
CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS E DIGESTÃO DE TECIDOS DE LÂMINAS FOLIARES E COLMOS DE GRAMÍNEAS FORRAGEIRAS TROPICAIS	
1. INTRODUÇÃO	44
2. MATERIAL E MÉTODOS	47
2.1. Descrição do experimento	47
2.2. Análises anatômicas	47
2.3. Avaliação da digestão <i>in vitro</i> dos tecidos	50
2.4. Análises estatísticas	51
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
3.1. Proporção de tecidos	52
3.1.1. Colmo	52
3.1.2. Lâmina foliar	54
3.2. Espessura e lignificação da parede celular.	57
3.2.1. Colmo.	57
3.2.2. Lâmina foliar	58
3.3. Digestão de tecidos	61
3.3.1. Colmo.	61
3.3.2. Lâmina foliar.	65
3.4. Proporção x digestão de tecidos	68
4. RESUMO E CONCLUSÕES	71
CAPÍTULO 3	74
CORRELAÇÕES ENTRE COMPONENTES ANATÔMICOS, QUÍMICOS E DIGESTIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DA MATÉRIA SECA	
1. INTRODUÇÃO	74
2. MATERIAL E MÉTODOS	77
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
4. RESUMO E CONCLUSÕES	90
3. RESUMO E CONCLUSÕES	92
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96

RESUMO

PACIULLO, Domingos Sávio Campos, D.S., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2000. **Características anatômicas e nutricionais de lâminas foliares e colmos de gramíneas forrageiras, em função do nível de inserção no perfilho, da idade e da estação de crescimento.** Orientador: José Alberto Gomide. Conselheiros: Eldo Antônio Monteiro da Silva e Domingos Sávio Queiroz.

Avaliaram-se as características anatômicas, a composição química e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca, bem como as correlações entre essas variáveis, de lâminas foliares e segmentos de colmo amostrados em dois níveis de inserção no perfilho de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*), capim-gordura (*Melinis minutiflora*) e capim-tifton 85 (*Cynodon sp*), em duas estações do ano (verão e outono). Foram amostradas folhas das posições inferior e superior do perfilho, no dia da exposição da lígula e 20 dias após, e segmentos de colmo situados imediatamente abaixo da folha de nível de inserção superior. Para as características anatômicas, foram medidas, em seções transversais de lâminas e colmos, a proporção relativa de epiderme, mesofilo, esclerênquima, bainha parenquimática dos feixes, xilema, floema e parênquima e a espessura da parede de células do esclerênquima e dos vasos de metaxilema. Foi estimada a digestão de tecidos em seções transversais incubadas em líquido ruminal. Os teores médios de PB de lâminas foliares exibiram pequena variação entre as espécies e diminuíram de 18,8 para

14,6%, após 20 dias de expansão, e de 18,9 para 14,5%, entre as lâminas das posições inferior e superior do perfilho. Lâminas da posição superior apresentaram mais elevados teores de FDN e lignina. Os coeficientes de DIVMS caíram a partir do momento da expansão da lâmina foliar e foram influenciados pela estação de crescimento e pelo nível de inserção, principalmente em lâminas recém-expandidas, que exibiram maiores valores quando situadas no nível inferior e colhidas no outono. A DIVMS do colmo variou de 56,7 a 62,7%, dependendo do estágio de desenvolvimento e da estação; o menor valor foi encontrado em capim-braquiária (56,9%) e os mais elevados, em capim-tifton 85 (59,6%) e capim-gordura (60,5%). Lâminas do nível de inserção superior apresentaram mais elevadas proporções de esclerênquima, bainha parenquimática dos feixes e xilema; menor proporção de mesofilo; e células do esclerênquima e do metaxilema com paredes mais espessas (2,01 e 1,41 μm , respectivamente). Observou-se maior proporção de xilema no capim-gordura (26,2% no colmo e 6,5% na lâmina foliar) e de mesofilo no capim-tifton 85 (42,5%). O capim-braquiária destacou-se pela mais elevada espessura da parede celular em colmos em idade avançada (3,74 μm). Foram digeridos o mesofilo, o floema e o parênquima, enquanto a bainha parenquimática dos feixes, o esclerênquima, o xilema e a epiderme do colmo permaneceram íntegros após incubação. Embora aparentemente intactas, células esclerenquimáticas do colmo sofreram redução da espessura da parede após incubação em líquido ruminal. A espessura da parede celular foi a característica anatômica a se correlacionar mais fortemente com todos os componentes químicos, que se correlacionaram fortemente entre si e com a DIVMS. Das características anatômicas, somente a espessura da parede celular mostrou correlação significativa com a DIVMS, independente da fração. O mesofilo se correlacionou positivamente e o xilema, negativamente com a DIVMS, respectivamente, na lâmina e no colmo.

ABSTRACT

PACIULLO, Domingos Sávio Campos, D.S., Universidade Federal de Vicosa, august 2000. **Anatomical and nutritional traits of leaves and stems of forages grasses, according to level of insertion on grass tiller, age and season of growth.** Adviser: José Alberto Gomide. Committee members: Eldo Antônio Monteiro da Silva and Domingos Sávio Queiroz.

The anatomical traits, chemical composition and the *in vitro* dry matter digestibility were evaluated, as well as the correlation between these variables, in blades and stems at two stages of development and two insertion levels on tillers of signalgrass (*Brachiaria decumbens*), molassesgrass (*Melinis minutiflora*) and tifton 85 bermudagrass (*Cynodon sp*), in two seasons of the year (summer and autumn). Lower and upper leaf blades were sampled from the tillers, on the day of ligule exposure and 20 days thereafter, and stems segments located below the upper leaf blade. The relative proportion of epidermis, mesophyll, sclerenchyma, parenchyma bundle sheath, xylem, phloem and parenchymal cells, and sclerenchyma and metaxylem cell wall thickness were the anatomical traits determined in transversal sections of leaf blades and stems segments. Tissue digestion was estimated in transversal sections incubated in ruminal fluid. The crude protein contents of leaf blades showed little differences among species, but decreased with development from 18.8 to 14.6 % and level of insertion from 18.9 to 14.5 % from lower to upper position. Leaf blades of higher insertion level had a greater neutral

detergent fiber and lignin concentrations. The IVDMD decreased as leaf aged and exhibited greater values when situated at lower insertion level and sampled in the autumn. The average stems IVDMD values of stems varied from 56.7 to 62.7%, according to stage of development and season of growth. The values were 56.9, 59.6 and 60.5% for the signalgrass, bermudagrass and molassesgrass, respectively. Leaf blades of higher insertion level had a higher proportion of sclerenchyma, xylem and parenchyma bundle sheath, thicker cell walls (2.01 and 1.41 μ m for sclerenchyma and metaxilem, respectively), and a smaller proportion of mesophyll. A higher proportion of the xylem in molassesgrass (26.2 and 6.5%, for the stem and leaf blades, respectively) and mesophyll in bermudagrass (42.5%) were observed. Signalgrass old stems showed a higher sclerenchyma cell wall thickness (3.74 μ m). The mesophyll, phloem and parenchymal cells were digested, while esclerenchyma, xylem and epidermis (stem) remained intact after incubation in rumen fluid. The thickness of sclerenchyma cell wall were reduced after incubation in rumen fluid, although the tissue appeared to be indigestible under the microscope. The cell wall thickness were the anatomical trait to exhibit the higher correlation with all chemical components, which correlated among themselves as well as with the IVDMD. From the anatomical traits, the cell wall thickness were the only one to exhibit a significant correlation with the IVDMD, independent of fraction. The IVDMD correlated positively with leaf blade mesophyll and negatively with stem xylem.

1. INTRODUÇÃO

As pastagens desempenham importante papel na alimentação dos bovinos e se revestem de maior importância na região dos trópicos, onde condições climáticas favoráveis permitem que as espécies forrageiras do tipo C₄ expressem seu elevado potencial produtivo. No Brasil, as pastagens têm lugar assegurado como principal fonte alimentar, por representarem a mais barata fonte de alimentos para se produzir e utilizar, o que contribui para que a atividade pecuária seja conduzida de forma competitiva.

Alguns fatores contribuem para o baixo aproveitamento das forrageiras tropicais pelos ruminantes, entre eles, a baixa qualidade destas forrageiras (VAN SOEST, 1994). Características químicas da planta forrageira, como as elevadas concentrações de lignina na parede celular, comprometem a digestibilidade da matéria seca e a alta concentração de parede celular limita o consumo pelos bovinos. Apesar de representar a maior parte da matéria seca das forrageiras e constituir-se na maior fonte de energia para os ruminantes sob regime de pastejo, freqüentemente, menos de 50% da parede celular é prontamente digestível e utilizada pelo animal. Alguns autores têm analisado a hipótese das limitações físicas à digestão. Neste caso, a anatomia da planta, especificamente o tipo de arranjo das células nos tecidos, a proporção de tecidos e a espessura da parede celular desempenham importante papel sobre a digestão de gramíneas forrageiras, tanto quanto, ou até mais que a composição química da parede celular (WILSON e MERTENS, 1995).

Entre as características anatômicas, a proporção de tecidos tem sido o principal indicativo da qualidade nutricional de espécies e cultivares de gramíneas forrageiras. Alguns trabalhos demonstraram correlações significativas entre características nutritivas (fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, proteína bruta, digestibilidade *in vitro* da matéria seca, entre outras) e proporção de tecidos medida em seções transversais de folhas e colmos de gramíneas.

Características anatômicas e nutricionais são influenciadas pelo estágio de desenvolvimento e pelo nível de inserção da folha no perfilho (WILSON, 1976a, b; QUEIROZ et al., 2000a, b). Lâminas foliares inseridas no topo do perfilho apresentam maior proporção de tecidos de sustentação e paredes celulares mais espessas, sendo menos digestíveis que lâminas de mais baixos níveis de inserção, quando em mesma idade (WILSON, 1976a, b).

Nenhum fator isolado afeta tanto a qualidade da forragem quanto a idade, mas o ambiente no qual a planta se desenvolve também desempenha papel relevante. FAHEY e HUSSEIN (1999) destacaram a importância de se determinarem os efeitos dos fatores de ambiente sobre a qualidade da forragem.

Torna-se evidente a necessidade de mais informações sobre a anatomia e o valor nutritivo das diferentes gramíneas forrageiras sob diferentes condições de crescimento, para permitir avanços no conhecimento das barreiras que comprometem o aproveitamento das forrageiras tropicais pelos ruminantes. Merecem destaque avaliações da proporção de tecidos, da espessura da parede celular destes, da digestão dos tecidos e das correlações entre características anatômicas e nutricionais.

Conduziu-se este trabalho com os seguintes objetivos:

- avaliar características anatômicas e nutricionais de lâminas foliares e segmentos de colmo das gramíneas forrageiras *Brachiaria decumbens*, *Melinis minutiflora* e *Cynodon sp* cv. tifton 85, em diferentes idades e níveis de inserção no perfilho, em duas estações de crescimento;
- verificar o potencial de digestão dos tecidos da lâmina e de segmentos de colmo das referidas gramíneas; e

- estabelecer correlações entre as características anatômicas, os componentes químicos e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Tecidos vegetais

As gramíneas são constituídas por um conjunto de órgãos (inflorescência, folha, colmo e raiz), cada um formado por tecidos que, por sua vez, 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. Assim, tecidos designados à sustentação da planta possuem células densamente agrupadas, com paredes espessadas 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.

Os tecidos da lâmina foliar são diferenciados em tecidos condutores (feixes vasculares), consistindo das células do xilema e do floema, em tecido de suporte ou sustentação, o esclerênquima, que, em folhas de gramíneas, está freqüentemente associado aos feixes vasculares e, em tecido assimilatório, formado pelas células do parênquima clorofiliano que constituem o mesofilo. Ambas as superfícies da folha são cobertas pela epiderme, que por sua vez, pode ser coberta na face exterior pela cutícula. Gramíneas C_3 têm os feixes vasculares das folhas circundados por uma bainha de parede espessada na face interna e uma bainha de células com paredes delgadas mais externamente. Os feixes vasculares são separados por um mesofilo com

células esparçamente arranjadas. Nas gramíneas C_4 , observa-se, ao redor dos feixes vasculares, uma bainha de células grandes com paredes que apresentam espessura até cinco vezes a das células do mesofilo (WILSON, 1993). Esta bainha, denominada bainha parenquimática dos feixes vasculares, rica em cloroplastos, participa do processo fotossintético. Nas espécies C_4 , as células do mesofilo apresentam-se densamente arranjadas, formando uma estrutura radial ao redor dos feixes vasculares, denominado arranjo tipo Kranz.

O colmo das gramíneas apresenta um tecido parenquimático, no qual os feixes vasculares estão dispersos, um anel esclerenquimático que circunda todo o colmo, e a epiderme mais externamente. Os feixes vasculares são semelhantes àqueles encontrados nas folhas, podendo ser circundados por um anel de fibras (esclerênquima). Nos estádios iniciais de desenvolvimento, apenas o xilema é lignificado, mas com a maturação há progressiva lignificação que inclui o anel esclerenquimático e em um estágio mais avançado, até o parênquima onde os feixes vasculares estão inseridos (AKIN, 1989).

2.2. Fatores determinantes da anatomia e do valor nutritivo em gramíneas forrageiras

Diferenças histo-anatômicas são marcantes entre os grupos fotossintéticos C_3 e C_4 (WILSON et al., 1983; BOHN et al., 1988; e DENGLER et al., 1994), embora existam diferenças entre espécies e cultivares do mesmo grupo fotossintético e entre frações de uma mesma planta (WILSON e HATTERSLEY, 1989; TWIDWELL et al., 1991; e QUEIROZ, 2000b).

Em uma mesma planta, observa-se um gradiente das características anatômicas e nutricionais, segundo o nível de inserção, quando se comparam folhas em um mesmo estágio de desenvolvimento (WILSON, 1976a, b; RODELLA et al., 1984). Lâminas e bainhas foliares de mais alto nível de inserção apresentam maior proporção de esclerênquima e feixes vasculares, paredes celulares e cutículas mais espessas, mas menor proporção de mesofilo, bainha parenquimática dos feixes e epiderme. A maior proporção de feixes vasculares em folhas inseridas nos níveis de inserção superiores é atribuída ao maior número e tamanho dos feixes (WILSON, 1976b). Também folhas de mais alto nível de inserção possuem mais elevados teores de fibra

em detergente neutro e mais baixos de proteína, sendo menos digestíveis que folhas de mais baixos níveis de inserção, quando comparadas em mesma idade (WILSON, 1976a).

O tamanho da lâmina foliar guarda correlação positiva com as percentagens de esclerênquima, xilema e bainha parenquimática dos feixes (WILSON, 1976b; QUEIROZ, 1997). Lâminas foliares do topo do perfilho são mais longas (QUEIROZ, 1997) e necessitam de forte suporte estrutural, para manter sua conformação ereta, o qual é formado, principalmente, pelos feixes vasculares e pelo esclerênquima associado. Esta seria a explicação para o gradiente anatômico foliar observado ao longo do perfilho. Em muitas gramíneas de clima tropical, um suporte estrutural adicional é fornecido pela nervura mediana da lâmina foliar (WILSON, 1997), que, apesar de participar com apenas 6 a 13% da área da seção transversal, pode compreender de 18 a 28% do peso da folha e conter de 14 a 24% dos tecidos lignificados (WILSON, 1993). Sua participação na estrutura da lâmina parece ser fator determinante da digestibilidade, embora a maioria dos trabalhos não avalie esta correlação. Em geral, o limbo foliar apresenta mais elevada digestibilidade que a nervura mediana (WHEELER et al., 1984; STRUIK, 1985).

Comparações anatômicas e químicas entre segmentos de colmo situados nas porções superior e inferior do perfilho são escassas, mas, freqüentemente, mostram um gradiente de aumento do tecido esclerenquimático e de espessamento da parede celular e dos teores de fibra e de lignina, do topo para a base do perfilho (WILSON e HATFIELD, 1997; QUEIROZ, 2000a). Esta variação anatômica e química no colmo decorre de seu envelhecimento basípeto, o que resulta em menor digestibilidade da matéria seca na posição inferior do colmo.

O estágio de desenvolvimento é importante fator a influenciar o valor nutritivo da planta forrageira. O declínio em qualidade, como consequência do desenvolvimento, é resultado, primeiramente, do decréscimo na proporção folha/colmo, uma vez que a folha possui mais elevados teores de proteína bruta e coeficientes de digestibilidade e menores teores de parede celular e de lignina que o colmo. Embora colmos jovens apresentem elevada digestibilidade (NELSON e MOSER, 1994), a literatura tem demonstrado que, com a idade, o colmo sofre mais intensa lignificação que a folha, resultando em maior

decréscimo de sua digestibilidade. A mais baixa qualidade do colmo representa um problema para nutrição dos bovinos que utilizam a planta forrageira como principal fonte de nutrientes, principalmente em regiões tropicais, onde o alongamento do colmo acontece continuamente por toda estação de crescimento (WILSON e HATFIELD, 1997).

Além de alterações na relação folha/colmo, como um reflexo do desenvolvimento da planta, tem sido observado decréscimo na digestibilidade de cada uma destas frações. O declínio na qualidade de lâminas e bainhas foliares não pode ser atribuído a variações na proporção de seus tecidos, uma vez que a contribuição relativa de cada tecido na folha não se altera com a idade (AKIN e BURDICK, 1975; WILSON, 1976a; e CHERNEY e MARTEN, 1982). Nesse caso, o incremento nos constituintes da parede celular (MACADAM et al., 1996) e as alterações na composição química da parede celular, como aumento das concentrações de xilose, de lignina e de ácidos fenólicos (TITGEMEYER et al., 1996; MACADAM et al., 1996), principalmente no xilema e no esclerênquima, explicam o decréscimo na qualidade das folhas com a idade. No colmo, o avanço do desenvolvimento representa fator significativo de alterações anatômicas (WILSON, 1993) e, conseqüentemente, qualitativas. Em colmos jovens, as células parenquimáticas são relativamente indiferenciadas e altamente digestíveis (HACKER e MINSON, 1981). Com o desenvolvimento do colmo, estas células desenvolvem uma espessa parede secundária, formando um rígido anel esclerenquimático ao redor dos feixes vasculares, representando comprometimento para a digestibilidade (HANNA et al., 1976; WILSON, 1993).

Os efeitos do clima sobre a anatomia e o valor nutritivo de gramíneas forrageiras têm sido avaliados. Entre os fatores climáticos (temperatura, luz e umidade) que influenciam a qualidade da forrageira, a temperatura sob a qual a planta se desenvolve é o de efeitos mais expressivos. Estes efeitos ocorrem, principalmente, em razão de a temperatura influir na energia cinética das moléculas, o que condiciona a atividade enzimática e, conseqüentemente, a velocidade das reações químicas da planta (VAN SOEST, 1994). Assim, os processos metabólicos da planta sofrem influência direta da temperatura. Normalmente, as enzimas responsáveis pela catalise das diversas reações incrementam sua atividade com o aumento da temperatura ambiente. Nesse

contexto, dependendo da temperatura, a síntese de vários compostos da planta, como os constituintes da parede celular e as ligações entre eles, pode aumentar ou diminuir, e conseqüentemente, alterar o valor nutritivo da planta forrageira.

Em geral, a proporção de tecidos não se altera com a temperatura (AKIN et al., 1987; WILSON et al., 1991), o fotoperíodo (SILVA et al., 1987) e a umidade no solo (PACIULLO et al., 1999). A espessura da parede das células do esclerênquima aumenta com a redução da umidade no solo (PACIULLO et al., 1999), enquanto os efeitos da temperatura se apresentam inconsistentes com aumento da espessura, decorrente de incremento da temperatura (22 para 32°C) em *Cynodon dactylon*, e decréscimo em *Panicum maximum* (WILSON et al., 1991). Nesse estudo, foi observado que tecidos pobremente digestíveis (bainha parenquimática dos feixes, xilema e esclerênquima) apresentaram menor digestão à temperatura de 32°C. Os autores atribuíram a queda na digestibilidade ao aumento na lignificação.

De fato, os trabalhos demonstram que as variações no valor nutritivo de gramíneas forrageiras, em função da temperatura ambiente, são decorrentes das alterações na composição química dos tecidos, como a intensificação na lignificação da parede celular, e não de alterações em características anatômicas, como a proporção de tecidos. Elevadas temperaturas reduzem significativamente a digestibilidade da matéria seca da forragem, seja de gramíneas ou de leguminosas e de colmos ou de folhas (WILSON, 1982; WILSON et al., 1991). De acordo com VAN SOEST (1994), a baixa digestibilidade observada em plantas que se desenvolvem sob condições de elevadas temperaturas pode ser atribuída a dois fatores principais. Primeiramente, altas temperaturas resultam em aumento na lignificação da parede celular; em segundo lugar, as atividades metabólicas da planta são aceleradas sob altas temperaturas de crescimento, o que causa decréscimo no conjunto de metabólitos do conteúdo celular. Os produtos fotossintéticos são, desta forma, mais rapidamente convertidos em componentes estruturais.

A relação quantitativa entre temperatura e digestibilidade tem sido estabelecida por diversos autores. Em ampla revisão sobre o assunto, WILSON (1982) relatou valores que variam de 0,08 a 1,81 unidades percentuais de

queda na digestibilidade para cada grau centígrado de elevação na temperatura.

Ao longo das estações, os fatores do ambiente atuam simultaneamente, determinando variações na composição química e na digestibilidade das plantas forrageiras. Em geral, mais altos valores de digestibilidade são observados nas estações frias (outono/inverno) que nas estações quentes (primavera/verão), sendo que maior taxa de declínio na digestibilidade, com o avanço da idade, é verificada nas estações quentes (JONHSON et al., 1973; MACADAM et al., 1996).

2.3. Anatomia x valor nutritivo

A qualidade da planta forrageira pode ser classificada como uma função da interação do valor nutritivo (composição química x digestibilidade) com o consumo (Mott e Moore, 1969, citados por REID, 1994), ou ainda do produto entre a digestibilidade da matéria seca, o consumo e a eficiência de utilização dos nutrientes digeridos (RAYMOND, 1968).

Na avaliação dos alimentos, assume-se que os mesmos são variáveis em sua composição e as respostas do animal refletem estas variações (VAN SOEST, 1994). O conhecimento do valor nutritivo das forragens reveste-se de importância acentuada, seja para permitir adequada suplementação de dietas à base de volumosos ou para orientar o manejo das forrageiras, visando seu melhor aproveitamento pelos ruminantes.

Estudos avaliando a influência da anatomia de gramíneas forrageiras sobre seu valor nutritivo têm sido desenvolvidos nas últimas três décadas (AKIN, et al., 1973; WILSON, 1976b; HASTERT et al., 1983; WILSON e MERTENS, 1995; LEMPP et al., 1998; e BRITO et al., 1999). Apesar de escassos, estes trabalhos demonstram a importância de se agregarem os conhecimentos em anatomia vegetal às avaliações do valor nutritivo de forragens.

A proporção de tecidos tem sido a característica anatômica usada como indicativo do valor qualitativo das forrageiras. A possibilidade de se associar esta característica com a qualidade nutricional de espécies forrageiras

surgiu com a observação de que diferentes tipos de tecidos apresentam taxa e extensão de digestão diferenciadas (WILKINS, 1972; AKIN e BURDICK, 1975). Assim, medidas da proporção dos tecidos com elevado conteúdo celular e/ou delgada parede primária (não-lignificada), os quais apresentam alta digestibilidade, e daqueles tecidos com baixo conteúdo celular e espessa parede celular (frequentemente lignificada), normalmente associados à baixa digestibilidade (WILSON, 1997), podem explicar diferenças qualitativas entre espécies e/ou cultivares de forrageiras.

Em geral, as espécies C₄ apresentam, na lâmina foliar, maior proporção de tecidos condutores, bainha parenquimática dos feixes e esclerênquima, enquanto as espécies C₃ se destacam pela maior proporção de mesofilo, que ocupa ao redor de 60% da seção transversal da lâmina foliar destas gramíneas.

A anatomia do colmo se mostra menos variável que a da lâmina foliar, tanto entre gramíneas do tipo C₄ e C₃, quanto entre espécies dentro de um mesmo grupo fotossintético (AKIN, 1989).

O potencial de digestão dos diferentes tecidos tem sido avaliado em seções transversais da lâmina foliar e do colmo, incubadas em líquido ruminal (AKIN e BURDICK, 1975; CHESSON et al., 1986; WILSON et al., 1991; e LEMPP et al., 1998). Os estudos mostram que os microorganismos colonizam praticamente todas as partículas que chegam ao rúmen. A maior rota de invasão parece ser via lesão da epiderme (CHESSON e FORSBERG, 1988), embora a invasão pelo estômato possa ser importante para a colonização dos tecidos foliares (BRITO et al., 1999). As bactérias do rúmen digerem inicialmente as células do mesofilo e as do floema (HANNA et al., 1973; AKIN et al., 1973), as quais possuem apenas uma delgada parede primária não-lignificada. Estes tipos de células são facilmente fragmentadas em partículas pequenas, sendo rápida e completamente digeridas (CHESSON et al., 1986).

A taxa de digestão das células do mesofilo condiciona o acesso dos microorganismos às células da bainha parenquimática dos feixes, uma vez que estas células estão envolvidas pelo mesofilo. Do ponto de vista nutricional, as células da bainha parenquimática são importantes, por apresentarem, no conteúdo celular, aproximadamente 50% da proteína foliar e alta proporção de amido. Todavia, em decorrência da elevada espessura de suas paredes, estas

células apresentam, em geral, baixa taxa de digestão. Consequentemente, parte da proteína pode escapar da degradação ruminal naquelas células que não forem rompidas ou degradadas pelos microorganismos. Segundo WILSON (1997), este fato pode ter conseqüências negativas ou positivas para a qualidade da forragem. Em dietas pobres em proteína (abaixo de 6-7%), a baixa disponibilidade de nitrogênio no rúmen, resultante da não-degradação das células da bainha, pode comprometer a atividade microbiana, diminuindo a digestão da fibra. Já em dietas com elevado teor protéico, as células da bainha que escapam da digestão no rúmen se tornam fonte de proteína “by-pass”, levando à maior eficiência do uso do nitrogênio pelo ruminante.

Tecidos como o esclerênquima e o xilema, formados por células de parede secundária espessada, são os que mais contribuem para a baixa qualidade da forragem (AKIN, 1989; WILSON, 1993). Estes tecidos formam um sólido bloco multicelular no interior do rúmen, resultando em partículas de grande tamanho, que são pouco digeridas, em razão da lignificação e de problemas na acessibilidade dos microorganismos do rúmen à superfície da parede celular (WILSON e MERTENS, 1995). Assim, os resíduos da digestão de gramíneas, independente do estágio vegetativo, contêm alta proporção de células esclerenquimáticas e xilema (AKIN, 1989). Em virtude de as células destes tecidos estarem densamente agrupadas, sua menor contribuição em área de tecido, freqüentemente, não reflete o efeito negativo que exercem sobre a qualidade do alimento. Em folhas de *Lolium temulentum*, estas células ocuparam 4% da área celular, apenas, mas contribuíram com 19 e 43% em peso seco total e de parede celular, respectivamente. No colmo de sorgo representaram 16% da área total, 38% do peso seco e 64% da parede celular (WILSON, 1993).

Sobre a importância da anatomia no controle do consumo, MINSON e WILSON (1994) ressaltaram que pouca atenção tem sido dada ao uso de fatores anatômicos, como a proporção de feixes vasculares em seções transversais da folha, para predição do consumo. Esses autores reconhecem algumas dificuldades neste tipo de estimativa, destacando o longo tempo requerido nas medições da área dos tecidos; a diversidade de fatores que influem no tamanho de partícula e na facilidade de fragmentação; e, finalmente, experimentos sobre o consumo requerem grande quantidade de forragem, que,

por sua vez, apresenta diferentes proporções de lâmina, bainha e colmo, cada uma com anatomia própria.

A anatomia pode condicionar o tamanho e a forma das partículas resultantes da mastigação ingestiva/ruminação e influenciar fatores como gravidade específica, taxa de passagem e taxa e extensão de digestão, com reflexo final sobre o consumo de forragem pelo animal (WILSON et al., 1989b).

AKIN (1989), compilando resultados de diferentes trabalhos sobre digestão de tecidos (Quadro 1), sugeriu a divisão dos tecidos foliares de gramíneas C_4 em rapidamente digestíveis (mesofilo e floema), lenta e parcialmente digestíveis (epiderme e células da bainha do feixe vascular) e indigestíveis (xilema e esclerênquima). Nas espécies C_3 , apenas o xilema e a bainha interna dos feixes, que ocorre em algumas espécies C_3 , são resistentes à digestão, sendo que, em uma posição intermediária, parcial e lentamente digestível, encontram-se o esclerênquima e a bainha parenquimática dos feixes. São rapidamente digeridos o mesofilo, o floema, a epiderme e a bainha externa dos feixes.

No colmo, AKIN (1989) classificou a epiderme e o esclerênquima como indigestíveis, podendo-se incluir os feixes vasculares, exceto o floema. O parênquima imaturo e o floema são rápida e totalmente digestíveis, enquanto o aumento da idade reduz progressivamente a digestibilidade do parênquima.

A combinação das informações de proporção com as de digestão de tecidos demonstra que aproximadamente 80-85% dos tecidos presentes na lâmina foliar das gramíneas de clima temperado C_3 são rapidamente digeridos, enquanto nas espécies C_4 estes tecidos representam, apenas, 30-35% do total de tecidos. Por outro lado, nas gramíneas C_4 , os tecidos de digestão lenta e parcial, assim como os resistentes à digestão, representam 60-65% dos tecidos da lâmina. Estas diferenças na proporção de tecidos explicam, em parte, a maior qualidade das lâminas foliares das espécies C_3 em relação às C_4 .

Correlações altamente significativas entre a proporção de tecidos individuais, ou em combinação, e as características nutricionais têm sido observadas (WILKINS, 1972; WILSON et al., 1989a; e QUEIROZ et al., 2000b). A proporção de células rápida e totalmente digeridas, como as do mesofilo, apresentam correlações positivas com os coeficientes de digestibilidade e

negativas com os teores de parede celular. Por outro lado, tecidos resistentes à digestão, como o xilema e o esclerênquima, ou de digestão lenta e parcial, como a bainha parenquimática dos feixes, correlacionam-se positivamente com os teores de parede celular e de lignina e negativamente com a digestibilidade.

A proporção de tecidos não permite inferências quanto à sua organização nas lâminas e quanto a possíveis diferenças na espessura e na composição química das paredes das células de um mesmo tecido entre as espécies. Assim, algumas vezes não são encontradas correlações significativas entre a proporção de tecidos e a digestibilidade de forrageiras. Muitas das variações observadas na digestibilidade *in vitro* da matéria seca (40,8 a 58,2%), em folhas de gramíneas C₄, não se originaram da proporção dos diferentes tecidos, mas da facilidade e da extensão final da digestão dos vários tecidos (WILSON et al., 1983).

A epiderme de certas espécies C₄ apresenta-se firmemente segura ao restante da folha por um suporte de células de parede grossa, formado pelo esclerênquima e pelas células da bainha do feixe vascular (WILSON et al., 1989b). Esta estrutura, conhecida como “girder”, dificulta o desprendimento da epiderme do restante da folha, resultando em maior resistência da planta aos danos mecânicos e químicos (WILSON e HATTERSLEY, 1989). A resistência à digestão é maior em espécies que apresentam o suporte de células nas epidermes abaxial e adaxial (“girder” I), relativamente àquelas que apresentam o suporte apenas em uma das faces da epiderme (“girder” T) (WILSON et al., 1989b).

Também nas gramíneas de clima tropical, a ruptura das folhas durante a mastigação apresenta maior dificuldade, pelo fato de suas células epidérmicas possuírem paredes com contorno sinuoso, que resulta em mais forte junção de células, relativamente àquelas com paredes com superfície lisa, como na maioria das gramíneas de clima temperado (WILSON, 1994).

Ainda que facilmente degradado, o mesófilo nas gramíneas C₄ é, pelo forte adensamento celular, mais lentamente digerido que nas espécies C₃, cujas células são mais frouxamente arranjadas, apresentando poucos pontos de aderência entre si. BYOTT (1976) estimou que, em lâminas de gramíneas C₄, existem de 3 a 12% de espaços intercelulares, enquanto nas C₃ estes

espaços representam de 10 a 35% da área do mesofilo. A maior quantidade de espaços intercelulares permite aos microrganismos ruminais rápido acesso às paredes das células, proporcionando elevada taxa de digestão à lâmina foliar. Além disso, facilita a fragmentação pela mastigação e a separação dos demais tecidos.

2.4. Componentes químicos e físicos relacionados à digestão da parede celular

O desenvolvimento de uma rígida parede ao redor do protoplasma celular representou evolução no processo de adaptação das plantas à vida terrestre. Nesse processo evolutivo, a parede celular adquiriu variações na composição química, na espessura e na distribuição espacial de suas diferentes camadas, dentro de cada tecido (BRETT e WALDRON, 1990).

A parede celular vegetal pode ser dividida em paredes primária, secundária e terciária. As duas primeiras camadas são as mais importantes e mais estudadas, embora WILSON (1993) tenha caracterizado a parede terciária como uma camada membranosa extremamente delgada, localizada internamente (lado do lúmen) à parede secundária.

A parede primária desenvolve-se simultaneamente à expansão celular. Em alguns tipos de células, como as do parênquima, esta é a única parede a se desenvolver. As paredes primárias de duas células contíguas são separadas por uma fina camada conhecida por lamela média, composta, principalmente, de substâncias pécticas. De acordo com WILSON (1993), a parede primária possui espessura média variando de 0,1 a 0,2 μm .

A parede secundária desenvolve-se internamente à parede primária, após completar-se a expansão da célula. Esta parede compreende três camadas (S_1 , S_2 e S_3), distinguidas pela orientação das microfibrilas de celulose. Não há evidências de diferenciação da digestão destas camadas. A parede secundária com espessura variando de 1 a 5 μm confere à célula resistência às forças de tensão e compressão. Geralmente, os tipos celulares que apresentam parede secundária se lignificam em maior ou menor grau (WILSON, 1993).

Quimicamente, a parede celular é uma matriz complexa composta de polissacarídeos, proteínas, compostos fenólicos, água e minerais. Dos polissacarídeos, destacam-se a celulose, a hemicelulose e a pectina. Existem fortes evidências de que os polissacarídeos isolados apresentam relativa facilidade de degradação pelos microorganismos do rúmen ou por enzimas isoladas (HATFIELD, 1989). Entretanto, é conhecido que a degradação destes polissacarídeos, quando presentes na forma natural compondo a parede celular, é raramente completada e varia conforme o tecido examinado, a espécie e a idade da planta. As interações dos componentes da parede, particularmente entre os polifenóis e os carboidratos, exercem as maiores restrições à degradação da parede celular (JUNG, 1989).

Dos componentes químicos associados à parede celular, a lignina é o componente que, reconhecidamente, limita a digestão dos polissacarídeos da parede celular no rúmen (JUNG e DEETZ, 1993). As primeiras observações de correlação negativa entre o conteúdo de lignina e a digestibilidade das forrageiras foram realizadas no início do século (Furstenberg, 1906, citado por BESLE et al., 1994).

Embora a estrutura e a biossíntese da lignina sejam objeto de estudos por mais de um século, muitas questões fundamentais permanecem desconhecidas. WHETTEN et al. (1998) destacaram incertezas quanto à polimerização dos monolignóis na parede celular (organizada ou ao acaso), à via de biossíntese dos precursores da lignina e à relação entre a estrutura e a função da lignina.

Em geral, a lignina possui três álcoois aromáticos: álcool coniferil, que predomina nas espécies arbóreas, álcool sinapil e álcool p-coumaril, predominantes em gramíneas e leguminosas. Os termos “core” e “non-core” têm sido usados por alguns autores para diferenciar tipos de lignina em forrageiras (GORDON, 1975; JUNG e DEETZ, 1993). O primeiro tipo (lignina “core”) refere-se ao polímero de fenilpropanóides depositado na parede celular, pela polimerização dos álcoois precursores coniferil, sinapil e p-coumaril. Este tipo, determinado rotineiramente nas análises laboratoriais com uso de ácido sulfúrico 72%, é extremamente condensado e também conhecido por lignina Klason ou lignina em detergente ácido (VAN SOEST, 1994). A lignina “non-core” representa os ácidos fenólicos *p*-coumárico e ferúlico (e seus dímeros)

depositados na parede celular durante sua formação. Estes ácidos podem estar ligados à lignina “core”, aos polissacarídeos ou a ambos, simultaneamente (JUNG, 1989). HATFIELD et al. (1999) sugeriram que a divisão dos tipos de lignina em “core” e “non-core” não é apropriada, levando-se em conta que outros componentes podem ser incorporados ao polímero de lignina. Para esses autores, seria melhor definir a lignina com base não só em sua composição química, mas também em relação às suas características funcionais, como prover integridade estrutural à parede celular, resistência à degradação e impermeabilidade à água.

A base química da ligação lignina-carboidratos ainda não é bem entendida em gramíneas, embora esta associação seja amplamente consolidada em espécies arbóreas (BESLE et al., 1994). A lignina pode estar quimicamente ligada à hemicelulose, por meio da xilose e arabinose (JUNG e VOGEL, 1992), porém não há evidência de ligação covalente com a celulose (CHESSON e FORSBERG, 1988).

Embora as gramíneas apresentem mais baixos teores de lignina que as leguminosas, as correlações negativas com a digestibilidade são mais fortes em gramíneas. A explicação pode estar na maior concentração de hemicelulose encontrada em gramíneas. Como a lignina se liga covalentemente à hemicelulose, seu efeito seria mais prejudicial para a digestibilidade das gramíneas que das leguminosas (VAN SOEST, 1994). Outra possibilidade reside nas diferenças em composição monomérica da lignina entre gramíneas e leguminosas. JUNG (1989) sugeriu que não somente a quantidade, mas também a composição da lignina, pode influenciar na digestibilidade da fibra.

Os ácidos fenólicos (lignina “non-core”) presentes na parede celular das forrageiras mereceram maior atenção por parte dos pesquisadores a partir dos estudos de HARTLEY (1972), que mostrou correlações negativas entre as concentrações destes ácidos e a digestibilidade. Em geral, o ácido p-cumárico é o que apresenta maior efeito negativo sobre a digestibilidade de forrageiras.

Segundo JUNG e DEETZ (1993), a lignificação da parede celular pode limitar a digestão dos polissacarídeos por meio de três possíveis mecanismos: 1) efeito tóxico de componentes da lignina aos microorganismos do rúmen; 2) impedimento físico causado pela ligação lignina-polissacarídeo, que limita o

acesso das enzimas fibrolíticas ao centro de reação de um carboidrato específico; e 3) limitação da ação de enzimas hidrofílicas causada pela hidrofobicidade criada pelos polímeros de lignina.

Com relação à toxicidade causada por componentes da lignina, a maioria dos trabalhos indica o ácido p-cumárico como o mais tóxico aos microrganismos do rúmen, relativamente aos outros ácidos, embora este efeito só tenha sido observado em concentrações (acima de 1 mM), normalmente não detectadas no fluido ruminal. Assim, a toxicidade causada pelos monômeros fenólicos liberados durante a digestão da parede parece improvável, devido à rápida difusão destas moléculas para fora da célula, por meio do fluido ruminal. Entretanto, se o gradiente de difusão do fluido não está presente, como em células do esclerênquima pouco fragmentadas, as concentrações de ácidos fenólicos no interior da célula podem, facilmente, alcançar os níveis tóxicos aos microrganismos (WILSON e MERTENS, 1995). Além disso, o complexo ácido fenólico-carboidrato parece ser um produto comum resultante da digestão da parede celular (CHERNEY et al., 1992). Como o peso molecular deste complexo é elevado, sua taxa de difusão pode ser até 14 vezes mais lenta que a dos monômeros fenólicos isolados (WILSON e MERTENS, 1995), o que pode causar toxicidade aos microrganismos ruminais. Embora os ácidos fenólicos presentes na parede celular das forrageiras possam inibir a digestão dos polissacarídeos sob certas condições, a extensão desta inibição parece pouco significativa (JUNG e DEETZ, 1993), uma vez que as bactérias possuem mecanismos de desintoxicação dos ácidos p-cumárico e ferúlico, pela hidrogenação da dupla ligação e produção do ácido 3-fenilpropionico (Chesson et al., 1982, citados por MARVIN et al., 1996).

De acordo com JUNG e DEETZ (1993), não existe evidência direta que suporte a hipótese de limitação da digestão pela hidrofobicidade causada pela lignificação da parede celular. Segundo estes mesmos autores, o limitado acesso físico das enzimas hidrolíticas ao centro de reação do carboidrato parece ser a maior limitação à degradação da parede celular das forrageiras, em decorrência da lignificação.

Após a diferenciação e a maturação dos tecidos, a concentração de lignina na lamela média e na parede primária é mais elevada que na parede secundária, refletindo em maior efeito negativo na digestão dos tecidos. Além

disso, na parede primária, a lignina encontra-se mais ramificada e mais estreitamente associada aos polissacarídeos que na parede secundária, a qual apresenta a lignina em uma forma mais linear (JUNG e DEETZ, 1993). Estas características fazem com que a presença da lignina comprometa mais a digestão da camada da lamela média/parede primária que a digestão da parede secundária.

Em gramíneas, quando os microorganismos têm rápido acesso à superfície da parede celular, a digestão da parede secundária parece não ser prevenida somente pela lignificação. WILSON e MERTENS (1995) sugeriram que a espessura da parede celular e o arranjo das células nos tecidos podem limitar a digestão da parede secundária, tanto quanto, ou até mais que a composição química da parede secundária.

De fato, AKIN (1982) observou que a parede secundária das células esclerenquimáticas de gramíneas forrageiras apresentou considerável digestão no fluido ruminal, enquanto a lamela média e a parede primária permaneceram intactas. WILSON et al. (1991) verificaram diminuição de 54 a 85% na espessura da parede secundária das células esclerenquimáticas de três gramíneas de clima tropical, após 48 h de incubação em fluido ruminal. Outros resultados confirmaram a variável digestibilidade da parede secundária lignificada de células do esclerênquima e dos vasos de metaxilema, além da completa indigestibilidade da lamela média e da parede primária lignificadas (GRABBER e JUNG, 1991; WILSON et al., 1993). Assim, apesar de aparentemente intactos, tecidos como o esclerênquima e o xilema podem sofrer digestão parcial, com variável redução da parede secundária.

CHESSON et al. (1986) demonstraram completa digestão das paredes das células do mesofilo (não-lignificada) isoladas de folhas de *Lolium* após 8 h de incubação em fluido ruminal. Nesse caso, como a espessura média da parede destas células é de 0,2 μm (CHENG et al, 1980), obtém-se uma taxa de digestão em torno de 0,025 μm /hora. WILSON e HATIFIELD (1997) estimaram taxa semelhante para digestão da parede secundária lignificada do esclerênquima.

A espessura das paredes das células do esclerênquima varia com a espécie. A literatura mostra valores de 1,30 μm para *Cenchrus ciliaries*

(MOGHADDAM e WILMAN, 1998), 1,92 μm para *Brachiaria brizantha* (PACIULLO et al., 1999) e 2 a 5 μm para várias espécies (WILSON, 1993). Considerando a espessura média de 2,5 μm e a taxa de digestão de 0,025 $\mu\text{m}/\text{h}$, e assumindo que os microorganismos têm imediato acesso à superfície da parede, conclui-se que, menos de 50% (1,2 μm) da parede celular do esclerênquima será digerida após 48 h. Dessa forma, mesmo que a parede celular esteja acessível ao microorganismo, a digestão não se completará durante o tempo de residência das partículas no rúmen. Pode-se deduzir que, quanto maior a espessura da parede secundária, maior será o tempo necessário para sua completa digestão.

Em células com parede espessa, existe a possibilidade de as bactérias não terem rápido acesso à parede celular para iniciar o processo de digestão. Nesse caso, a digestão poderá ser limitada não somente pela elevada espessura da parede secundária, mas também pela baixa acessibilidade dos microorganismos à parede celular. Portanto, mesmo na ausência de restrições químicas, é esperado que a digestão da parede do esclerênquima e de outras células com parede espessa seja parcial, em razão da pequena área superficial para a colonização bacteriana, relativamente ao elevado volume de parede a ser digerida.

A importância da relativa inacessibilidade à parede secundária, resultante da estrutura física da parede celular e do arranjo das células, é reforçada pelos resultados de GRABBER et al. (1992) e WILSON et al. (1993). Nesses estudos, diferentes tipos de tecidos isolados de folhas e colmos de gramíneas foram finamente moídos e incubados para digestão. Evidentemente, a maioria das características anatômicas limitantes à digestão originalmente encontradas nos tecidos foi destruída. Os resultados mostraram, surpreendentemente, elevada digestão de células esclerenquimáticas fortemente lignificadas, evidenciando que as restrições físicas exercem importante papel no processo de digestão da parede celular.

CAPÍTULO 1

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* DE LÂMINAS FOLIARES E COLMOS DE GRAMÍNEAS FORRAGEIRAS TROPICAIS

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos 40 anos, o desenvolvimento de técnicas laboratoriais para análises químicas e de fermentação ruminal representou significativo avanço na avaliação do valor nutritivo de forrageiras. Estas técnicas são rápidas e possibilitam estimativas do valor nutritivo em grande variedade de espécies forrageiras, com uso de pequenas amostras. Tradicionalmente, as forrageiras têm sido avaliadas por meio estimativas da composição química e da digestibilidade *in vitro*.

Os componentes químicos de um alimento encontram-se no conteúdo celular, em que os compostos solúveis são encontrados, e na parede celular, formada por componentes estruturais, cuja disponibilidade para o ruminante depende da fermentação por microorganismos. Dentre eles, destacam-se os teores de proteína bruta, no conteúdo celular, e de fibra em detergente neutro, na parede celular. Normalmente, estes componentes guardam estreita correlação com a digestibilidade de forrageiras (WILSON e HATTERSLEY, 1989; QUEIROZ et al., 2000a). Existem fortes evidências de que os

polissacarídeos, quando isolados, apresentam relativa facilidade de degradação pelos microorganismos do rúmen ou por enzimas (HATFIELD, 1989). Entretanto, a degradação destes polissacarídeos presentes na forma natural, compondo a parede celular, é raramente completa e varia conforme o tecido examinado, a espécie e a idade da planta. As interações dos componentes da parede celular, particularmente entre os polifenóis e os carboidratos, exercem as maiores restrições à degradação da parede celular (HATFIELD et al., 1999). De fato, a lignina tem sido reconhecida como o principal componente químico a limitar a digestibilidade em forrageiras (AKIN e CHESSON, 1989; WILSON et al., 1991; e HATFIELD et al., 1999). O principal mecanismo de inibição parece ser por meio do impedimento físico do acesso ao centro de reação de constituintes potencialmente digestíveis, como a hemicelulose e a celulose, o que reduz a digestibilidade da forragem (JUNG e DEETZ, 1993).

A composição química e a digestibilidade variam, entre outros fatores, com a espécie, o estágio de maturidade, os fatores climáticos e o nível de inserção da folha no perfilho (WILSON, 1976a; WILSON et al., 1991; e QUEIROZ et al., 2000a). Lâminas foliares, comparadas em mesmo estágio de desenvolvimento, apresentam um gradiente de aumento nos teores de parede celular e decréscimo nos teores de proteína e na digestibilidade, da base para o topo do perfilho (WILSON, 1976a). Por outro lado, o avanço na idade da folha resulta em incremento nos componentes da parede celular e queda nos coeficientes de digestibilidade e nos teores de proteína bruta (WILMAN e MOGHADDAM, 1998).

De acordo com BUXTON e FALES (1994), nenhum fator isolado influencia tanto a qualidade da forragem quanto o estágio de desenvolvimento da planta, entretanto, o ambiente em que a planta se desenvolve modifica o impacto da idade. Entre os fatores climáticos, a temperatura tem papel primordial sobre a qualidade da forragem. Temperaturas elevadas comprometem a digestibilidade da matéria seca da forragem, seja de gramíneas ou de leguminosas e de colmos ou de folhas (WILSON, 1982; WILSON et al., 1991). A baixa digestibilidade observada em plantas que se desenvolvem sob condições de elevadas temperaturas pode ser atribuída a dois fatores principais. Primeiro, as atividades metabólicas da planta são

aceleradas sob altas temperaturas de crescimento, o que causa decréscimo no conjunto de metabólitos do conteúdo celular. Os produtos fotossintéticos são, dessa forma, rapidamente convertidos em componentes estruturais. Em segundo lugar, altas temperaturas ambientais resultam em aumento na lignificação da parede celular (VAN SOEST, 1994). Sob condições de campo, os fatores climáticos interagem determinando alterações qualitativas na planta forrageira. Em geral, mais altos valores de digestibilidade são observados durante as estações frias (outono/inverno) que nas estações quentes (primavera/verão), sendo que, a taxa de declínio na digestibilidade com o avanço no desenvolvimento é mais alta na estação quente (JONHSON et al., 1973; MACADAM et al., 1996).

Os efeitos do nível de inserção e de estação de crescimento sobre as características nutritivas ainda não estão totalmente elucidados, considerando o pequeno número de trabalhos desenvolvidos nesta área e o elevado número de espécies utilizadas na formação de pastagens. Além disso, os efeitos do clima, na maioria das vezes, são inconsistentes (WILSON et al., 1991; QUEIROZ et al., 2000a) e os de nível de inserção aparecem confundidos, principalmente, com os efeitos de idade da folha (QUEIROZ et al., 2000a).

Neste trabalho, foram avaliados os efeitos de duas idades e de dois níveis de inserção sobre a composição química e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca de lâminas foliares e segmentos de colmo de três gramíneas forrageiras, cultivadas no verão e no outono.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Descrição do experimento

As gramíneas forrageiras capim-gordura (*Melinis minutiflora*), capim-tifton 85 (*Cynodon sp*) e capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) foram cultivadas em área do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais. Viçosa localiza-se a 20°45' de latitude sul e 42°54' de latitude oeste, a uma altitude média de 650 m. Seu clima é do tipo Cwb (classificação Köppen), clima tropical de altitude, com verões quentes e chuvosos. As principais variáveis climáticas predominantes durante a fase de avaliação do experimento são apresentadas no Quadro 1.

As gramíneas foram plantadas em novembro de 1996, em parcelas de 20 m², sendo o experimento iniciado em dezembro de 1998. Após corte de uniformização, realizado com cutelo, à altura de 5 cm acima do solo, foi feita adubação em cobertura com sulfato de amônio (60 kg/ha de N), cloreto de potássio (60 kg/ha de K₂O) e superfosfato simples (80 kg/ha de P₂O₅).

Quadro 1- Variáveis climáticas observadas durante o período experimental

Ano/mês	Precipitação total (mm)	Insolação total (horas)	Temperatura máx. média (°C)	Temperatura min. média (°C)
Dezembro/98	105,3	167,1	28,9	18,3
Janeiro/99	154,2	222,3	30,3	18,9
Fevereiro/99	88,1	190,9	29,9	18,4
Março/99	273,7	208,2	28,5	17,8
Abril/99	36,5	211,4	27,6	16,1
Mai/99	2,0	248,1	25,3	12,1
Junho/99	13,2	156,7	21,8	11,5

Foram selecionados e identificados com anéis de mesma coloração quatro grupos de 10 perfilhos em cada parcela. O critério para orientar na colheita dos perfilhos baseou-se no nível de inserção e na idade da folha. Os perfilhos foram vistoriados periodicamente para se determinar o momento da colheita. No primeiro grupo de dez perfilhos, coletaram-se a 3ª folha, da base para o topo, do perfilho de capim-braquiária e capim-gordura e a 4ª folha de capim-tifton 85 (folhas de nível de inserção inferior), no momento da completa expansão (idade 0), caracterizado pelo aparecimento da lígula. No segundo grupo de perfilhos, foram retiradas folhas do nível de inserção inferior, porém 20 dias após o aparecimento da lígula (idade 20). No terceiro grupo de perfilhos, coletaram-se a 7ª folha de capim-braquiária e capim-gordura e a 11ª de capim-tifton 85 (folhas de nível de inserção superior) na idade 0. No quarto grupo de perfilhos, amostraram-se folhas na idade 20 e situadas no nível de inserção superior. A colheita de cada grupo de perfilhos foi realizada em um mesmo dia para as três espécies.

Foi amostrado o segmento de colmo localizado imediatamente abaixo da folha de nível de inserção superior, tendo em vista que, no momento da colheita da folha de nível de inserção inferior, o colmo não havia sido formado, existindo apenas pseudocolmo. No momento da colheita, os segmentos de colmo apresentaram seus tecidos diferenciados. Por isso, aqueles associados

às folhas recém-expandidas foram chamados de colmos jovens e os associados às folhas com 20 dias de idade, de colmos em idade avançada.

Foram realizadas avaliações em duas estações de crescimento, visando identificar os possíveis efeitos dos fatores climáticos sobre as características avaliadas. Nos meses de dezembro/98 e janeiro/99, foram amostrados os perfilhos do crescimento de verão. No final do mês de março, as plantas foram novamente cortadas e adubadas (mesmos níveis aplicados para o crescimento de verão). Nos meses de maio e junho de 1999, colheram-se amostras de perfilhos do crescimento de outono (Quadro 2).

Quadro 2 - Datas de colheitas dos perfilhos, de acordo com a idade e o nível de inserção da folha no perfilho

Nível de inserção	Idade	Data da colheita
Crescimento de verão		
Inferior	0	20/12/1998
Inferior	20	09/01/1999
Superior	0	10/01/1999
Superior	20	30/01/1999
Crescimento de outono		
Inferior	0	03/05/1999
Inferior	20	23/05/1999
Superior	0	30/05/1999
Superior	20	19/06/1999

Visando obter quantidade de material suficiente para análises químicas, outro grupo de perfilhos foi colhido no momento da amostragem dos perfilhos identificados. Nestes perfilhos, procurou-se amostrar lâminas de mesmo nível de inserção e de idade semelhante aos dos perfilhos marcados.

Foram realizadas irrigações na área experimental sempre que observado período de uma semana sem chuva.

2.2. Análises químicas

De cada perfilho, amostraram-se a lâmina e o segmento de colmo pré-determinados. Este material foi levado à estufa para secagem a 60°C. Depois de secas, as amostras foram moídas em moinho tipo Willey com peneira de 1 mm de abertura e acondicionadas em vidros para análises posteriores.

Foram analisados os teores de matéria seca (MS) a 105°C, segundo SILVA (1990); proteína bruta (PB), segundo o método semimicro Kjeldhal, usando fator 6,25 para conversão de nitrogênio em proteína bruta (ASSOCIATION OF OFFICIAL CHEMIST - AOAC, 1970); fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina no resíduo do detergente ácido, com uso de permanganato de potássio, segundo Van Soest e Wine (1968), citados por SILVA (1990). Os teores de hemicelulose e celulose foram estimados por diferença. A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) seguiu metodologia de TILLEY e TERRY (1963).

2.3. Análises estatísticas

Os resultados referentes à análise química e à digestibilidade *in vitro* da matéria seca foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa SAEG - Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV, 1995), para verificação dos efeitos da espécie, da idade e da estação de crescimento, para as lâminas foliares e os colmos, além do efeito do nível de inserção no perfilho, para as lâminas, apenas. As análises de variância para a fração lâmina foliar foram feitas segundo o modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + E_i + I_j + N_k + C_l + EI_{ij} + EN_{ik} + EC_{il} + IN_{jk} + IC_{jl} + NC_{kl} + EIN_{ijk} + ENC_{ijl} \\ + INC_{jkl} + EINC_{ijkl} + e_{ijklm}$$

em que

- Y_{ijklm} = valor da observação, referente ao m^o perfilho, na l^a estação, no k^o nível de inserção, na j^a idade, da i^a espécie;
- μ = média geral;
- E_i = efeito da i^a espécie, $i = 1, 2, \text{ e } 3$ (fixa);
- I_j = efeito da j^a idade, $j = 1 \text{ e } 2$ (fixa);
- N_k = efeito do k^o nível de inserção, $k = 1 \text{ e } 2$ (fixa);
- C_l = efeito da l^a estação, $l = 1 \text{ e } 2$ (fixa);
- Ei_{ij} = interação da i^a espécie com a j^a idade;
- EN_{ik} = interação da i^a espécie com o k^o nível de inserção;
- EC_{il} = interação da i^a espécie com a l^a estação;
- IN_{jk} = interação da j^a idade com o k^o nível de inserção;
- IC_{jl} = interação da j^a idade com a l^a estação;
- NC_{kl} = interação do k^o nível de inserção com a l^a estação;
- EIN_{ijk} = interação da i^a espécie com a j^a idade e com o k^o nível de inserção;
- ENC_{ikl} = interação da i^a espécie com o k^o nível de inserção e com a l^a estação;
- INC_{jkl} = interação da j^a idade com o k^o nível de inserção e com a l^a estação;
- $EINC_{ijkl}$ = interação da i^a espécie com a j^a idade, o k^o nível de inserção e a l^a estação;
- e_{ijklm} = efeito do m^o perfilho, amostrado na l^a estação, no k^o nível de inserção, na j^a idade, da i^a espécie.

Para o colmo, a análise de variância seguiu o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + E_i + I_j + C_k + EI_{ij} + EC_{ik} + IC_{jk} + EIC_{ijk} + e_{ijkl},$$

em que

- Y_{ijkl} = valor da observação, referente ao l^o perfilho, na k^a estação, j^a idade, da i^a espécie;
- μ = média geral;
- E_i = efeito da i^a espécie, $i = 1, 2, \text{ e } 3$;
- I_j = efeito da j^a idade, $j = 1 \text{ e } 2$;
- C_k = efeito da k^a estação, $l = 1 \text{ e } 2$;

E_{ij} = interação da i^a espécie com a j^a idade;
 EC_{ik} = interação da i^a espécie com a k^a estação;
 IC_{jl} = interação da i^a idade com a k^a estação;
 EIC_{ijk} = interação da i^a espécie com a j^a idade e a k^a estação;
 e_{ijkl} = efeito do l^o perfilho, amostrado na k^a estação, j^a idade, da i^a espécie.

As interações significativas foram desdobradas e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Colmo

O avanço no desenvolvimento do colmo resultou em aumentos ($P < 0,05$) dos teores de FDN e FDA e redução ($P < 0,01$) nos valores de PB (Quadro 3). Este comportamento pode ser atribuído à intensa deposição de lignina na parede celular. Enquanto os teores de celulose e hemicelulose não aumentaram com a idade, os de lignina elevaram-se ($P < 0,01$) de 3,2 a 6,0 unidades percentuais, dependendo da espécie (Quadro 4). Mais altos teores de lignina em segmentos de colmo na fase inicial do desenvolvimento foram observados em capim-braquiária e capim-tifton 85, embora a última espécie tenha apresentado menor incremento com a idade.

A estação de crescimento influenciou os teores de lignina no colmo apenas no estágio de desenvolvimento mais avançado, quando foram observados os maiores ($P < 0,05$) valores no verão (Quadro 4). A literatura demonstra a intensa deposição de lignina em condições de temperaturas elevadas (FORD et al., 1979; AKIN e CHESSON, 1989; e WILSON et al., 1991). Mais altos ($P < 0,01$) valores de FDA também foram observados no verão, o que pode ser atribuído aos aumentos da lignificação e dos teores de celulose (Quadro 3).

Observou-se interação ($P < 0,05$) estações de crescimento x espécies sobre os teores de FDN e PB (Quadro 5). Diferenças entre as gramíneas foram

observadas apenas no outono, enquanto, no verão, os teores de FDN foram mais elevados e os de PB, mais baixos que no outono, independente da espécie (Quadro 5). Os mais altos valores de constituintes da parede celular encontrados no verão reforçam os efeitos, principalmente, das elevadas temperaturas nesta estação. Progressivamente, com o desenvolvimento, parte dos metabólitos oriundos da fotossíntese é transformada em componentes estruturais. Em condições de temperaturas mais elevadas, como nos trópicos, a mais intensa atividade metabólica converte os produtos fotossintéticos rapidamente em componentes estruturais (VAN SOEST, 1994). Isto explica, em grande parte, a menor qualidade de gramíneas forrageiras tropicais relativamente às temperadas (WILSON et al., 1991). Maior incremento de FDN foi observado no capim-braquiária (8,1 unidades percentuais) e menor no capim-tifton 85 (2,0 unidades percentuais). O capim-gordura mostrou-se intermediário, com aumento de 5,7 unidades percentuais (Quadro 5).

Apenas os teores de FDA, celulose e hemicelulose mostraram efeito isolado de espécie (Quadro 3). O capim-tifton 85 apresentou mais baixos teores de celulose e FDA e mais altos de hemicelulose que o capim-braquiária e o capim-gordura, que não diferiram entre si. Ficam evidentes as diferenças entre as espécies para a composição da fração fibrosa. Tais diferenças podem influenciar a digestão da parede celular das espécies avaliadas. Tem sido aceito que a lignina é o principal componente químico da parede celular a limitar a digestibilidade das forrageiras. O efeito negativo advém de ligações da lignina com os polissacarídeos da parede celular, notadamente a hemicelulose, que impede o acesso de enzimas fibrolíticas ao centro de reação dos carboidratos (JUNG e DEETZ, 1993). Entretanto, segundo HATFIELD et al. (1999), as diferentes associações entre os demais componentes da parede celular, como os polissacarídeos e as proteínas estruturais (principalmente a extensina), também causam significativo impacto na taxa e na extensão de degradação da parede celular. Quando isolados, os polissacarídeos possuem

Quadro 3 - Teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), celulose (CEL) e hemicelulose (HEM) (% na MS) em segmentos de colmo, conforme a espécie, a idade e a estação de crescimento

Componente químico	Espécie¹			Idade		Estação de crescimento	
	BRA	GOR	TIF	Jovem	Avançada	Verão	Outono
PB	-	-	-	7,2 ^a	4,6 ^b	-	-
FDN	-	-	-	78,9 ^b	84,6 ^a	-	-
FDA	60,0 ^a	59,4 ^a	51,2 ^b	54,3 ^b	59,4 ^a	59,9 ^a	53,8 ^b
CEL	50,3 ^a	51,5 ^a	42,4 ^b	-	-	50,2 ^a	45,9 ^b
HEM	22,2 ^b	20,7 ^b	31,8 ^a	-	-	-	-

¹BRA - capim-braquiária, GOR - capim-gordura, TIF - capim-tifton 85.

Médias seguidas de letras diferentes, em cada componente químico, entre espécies, idades ou estações de crescimento, são diferentes (P<0,05) pelo teste de Tukey.

Quadro 4 - Teores de lignina (% na MS) em segmentos de colmo, conforme a idade, a estação de crescimento e a espécie

Idade	Estação de crescimento		Espécie		
	Verão	Outono	Capim-braquiária	Capim-gordura	Capim-tifton 85
Jovem	5,9 ^{Ba}	5,0 ^{Ba}	6,0 ^{Bab}	4,2 ^{Bb}	6,2 ^{Ba}
Avançada	12,2 ^{Aa}	8,7 ^{Ab}	11,7 ^{Aa}	10,2 ^{Aab}	9,4 ^{Ab}

Médias seguidas de letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, entre as estações de crescimento ou as espécies, são diferentes (P<0,05) pelo teste de Tukey.

Quadro 5 - Teores de fibra em detergente neutro (FDN) e de proteína bruta (PB) (% na MS) em segmentos de colmo, conforme a estação de crescimento e a espécie

Estação de crescimento	Espécie		
	Braquiária	Gordura	Tifton 85
	FDN		
Verão	84,1 ^{Aa}	85,1 ^{Aa}	84,1 ^{Aa}
Outono	76,0 ^{Bc}	79,4 ^{Bb}	82,1 ^{Ba}
	PB		
Verão	3,6 ^{Ba}	4,3 ^{Ba}	4,4 ^{Ba}
Outono	8,6 ^{Aa}	7,8 ^{Aab}	6,6 ^{Ab}

Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, em cada componente químico, são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

relativa facilidade de degradação (HATFIELD, 1989). Entretanto, na parede celular, estes polissacarídeos apresentam variável digestibilidade, dependente não só da lignificação, mas também de propriedades intrínsecas desses polissacarídeos, como a cristalinidade das moléculas de celulose (VAN SOEST, 1994).

O colmo de capim-braquiária foi o menos digestível ($P < 0,05$), com 56,9%, contra 59,6 e 60,5%, respectivamente, do capim-tifton 85 e capim-gordura, que não diferiram entre si. A mais baixa digestibilidade em colmo de capim-braquiária pode ser atribuída ao mais alto teor de lignina na idade mais avançada.

A digestibilidade foi mais elevada ($P < 0,01$) em colmos jovens no outono, não sendo observado efeito de idade no verão. Diferenças entre as estações foram observadas apenas em colmos jovens, quando amostras do outono exibiram mais alta ($P < 0,01$) digestibilidade (Quadro 6). Em geral, observa-se que a variação dos valores foi de pequena magnitude. Esperava-se mais intensa redução na digestibilidade com o desenvolvimento do colmo, principalmente no verão, uma vez que, em idade mais avançada e na estação

Quadro 6 - Coeficientes DIVMS (%) de segmentos de colmos de gramíneas forrageiras, conforme a idade e a estação de crescimento

Idade	Estação de crescimento	
	Verão	Outono
Jovem	58,4 ^{Ab}	62,7 ^{Aa}
Avançada	56,7 ^{Aa}	58,2 ^{Ba}

Médias seguidas de letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

de verão, o colmo apresentou mais elevadas concentrações dos componentes estruturais (FDN, FDA e lignina) e mais baixos teores de PB. Provavelmente, os elevados teores de FDN e FDA em segmentos de colmo jovens, respectivamente, de 78,9 e 54,3%, combinados com a baixa concentração de PB (7,2%) (Quadro 3), tenham sido suficientes para limitar a digestão e provocar a baixa variação da DIVMS no colmo.

3.2. Lâmina foliar

Observaram-se efeitos isolados da idade e do nível de inserção sobre os teores de FDN; de estação de crescimento sobre os teores de FDA; e de espécie e nível de inserção sobre os teores de lignina na lâmina foliar (Quadro 7). Repetindo os resultados obtidos em amostras do colmo, nota-se que os teores de FDN e FDA foram mais elevados ($P < 0,05$), respectivamente, em lâminas de idade mais avançada e amostradas na estação de verão. Entre as espécies, o capim-braquiária foi a que apresentou mais alto ($P < 0,05$) teor de lignina, sendo que as demais espécies não diferiram entre si.

Os teores de FDN, mais elevados ($P < 0,01$) em capim-tifton 85, e os de lignina, maiores ($P < 0,05$) em lâminas aos 20 dias de idade, foram mais elevados ($P < 0,05$) no verão, com exceção dos valores de FDN em capim-tifton 85 e de lignina em lâminas aos 20 dias de idade (Quadro 8). Este comportamento repete os resultados encontrados no colmo, podendo ser

atribuído às mais elevadas temperaturas ocorridas no verão (CONE e ENGELS, 1993; WILMAN e MOGHADDAM, 1998).

Em geral, a composição química foi acentuadamente influenciada pelo nível de inserção da folha no perfilho. Lâminas foliares da posição superior apresentaram maiores teores de FDN e lignina (Quadro 7). Observou-se interação ($P<0,05$) do nível de inserção com a idade e com a espécie sobre os teores de FDA das lâminas (Quadro 9). Mais altos teores de FDA em lâminas recém-expandidas foram observados nas folhas do nível de inserção superior, cujo teor de FDA não foi influenciado pela idade; já os teores de FDA das lâminas da posição inferior cresceram com a idade. Os teores de FDA não se alteraram em função da espécie, mas foram maiores ($p<0,01$) em lâminas do nível de inserção superior, com exceção do capim-tifton 85 (Quadro 9).

As diferenças dos teores de FDN e FDA entre lâminas das posições inferior e superior do perfilho decorrem dos mais elevados teores de lignina (Quadro 7) e celulose (Quadro 10) em lâminas do topo do perfilho. Por outro lado, o nível de inserção influenciou os teores de hemicelulose apenas no capim-tifton 85 (Quadro 10). O mais longo período de alongamento das folhas da posição superior (ROBSON, 1973; GOMIDE, 1997) contribuiu para os mais

Quadro 7 - Teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG) (% MS), em lâminas foliares, conforme a espécie, a idade, a estação de crescimento e o nível de inserção

Componente químico	Espécie ¹			Idade (dias)		Estação de ² crescimento		Nível de ³ inserção	
	BRA	GOR	TIF	0	20	VER	OUT	INF	SUP
FDN	-	-	-	65,6 ^b	67,9 ^a	-	-	64,9 ^b	68,6 ^a
FDA	-	-	-	-	-	43,8 ^a	41,5 ^b	-	-
LIG	4,0 ^a	3,1 ^b	3,2 ^b	-	-	-	-	3,1 ^b	3,5 ^a

¹ BRA – capim-braquiária, GOR – capim-gordura, TIF – capim-tifton 85.

² VER- verão, OUT- outono.

³ INF- inferior, SUP- superior.

Médias seguidas de letras diferentes, em cada componente químico, entre espécies, idades, estações de crescimento ou níveis de inserção, são diferentes ($P<0,05$) pelo teste de Tukey.

Quadro 8 - Teores de lignina e fibra em detergente neutro (FDN) (% na MS) em lâminas foliares, conforme a estação de crescimento, a idade e a espécie

Estação de crescimento	Idade (dias)		Espécie		
	0	20	Braquiária	Gordura	Tifton 85
	Lignina		FDN		
Verão	3,1 ^{Ab}	4,3 ^{Aa}	67,6 ^{Ab}	65,7 ^{Ab}	71,0 ^{Aa}
Outono	2,9 ^{Ab}	3,5 ^{Ba}	65,6 ^{Bb}	60,8 ^{Bc}	69,9 ^{Aa}

Médias seguidas de letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, entre as idades ou as espécies, são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Quadro 9 - Teores de fibra em detergente ácido (% na MS) em lâminas foliares, conforme o nível de inserção, a idade e a espécie

Nível de	Idade (dias)		Espécie		
	0	20	Capim-braquiária	Capim-gordura	Capim-tifton 85
Inferior	39,8 ^{Bb}	43,2 ^{Aa}	42,5 ^{Ba}	40,1 ^{Ba}	41,7 ^{Aa}
Superior	43,5 ^{Aa}	44,2 ^{Aa}	44,6 ^{Aa}	44,4 ^{Aa}	42,6 ^{Aa}

Médias seguidas de letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, entre as idades ou as espécies, são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

elevados teores de FDN, uma vez que a deposição dos constituintes de parede celular aumenta linearmente com a idade.

Os valores de PB na lâmina foliar variaram de 12,9 a 22,9% dependendo da espécie, da idade e do nível de inserção da folha no perfilho (Quadro 11). Estes valores podem ser considerados elevados, quando comparados aos teores encontrados em grande parte das gramíneas forrageiras tropicais (RIBEIRO et al., 1999, QUEIROZ et al., 2000a). O decréscimo da PB foi mais acentuado nas lâminas de baixo nível de inserção. Os valores observados estão acima do nível adequado de N na forragem essencial para se garantir elevado consumo voluntário pelo animal.

Quadro 10 - Teores de celulose e hemicelulose (% na MS) em lâminas foliares, conforme o nível de inserção e a espécie

Nível de inserção	Espécie		
	Capim-braquiária	Capim-gordura	Capim-tifton 85
Celulose			
Inferior	37,5 ^{Ba}	35,8 ^{Ba}	37,4 ^{Aa}
Superior	39,8 ^{Aa}	39,9 ^{Aa}	37,9 ^{Aa}
Hemicelulose			
Inferior	23,0 ^{Ab}	21,2 ^{Ab}	26,6 ^{Aa}
Superior	23,4 ^{Ab}	20,7 ^{Ab}	30,0 ^{Ba}

Médias seguidas de letras diferentes, maiúsculas nas colunas, em cada componente químico, e minúsculas nas linhas, entre as espécies, são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

MILFORD e MINSON (1966) demonstraram que o consumo de MS das forrageiras tropicais foi positivamente influenciado pelo teor protéico da forragem até o nível de 7%, permanecendo inalterado para teores de proteína acima desse valor. Enquanto a elevada concentração de proteína das forrageiras avaliadas favorece o consumo voluntário, os teores de FDN observados representam condições negativas para o consumo. A FDN representa a fração química do volumoso, que guarda a mais estreita correlação com o consumo, sendo que valores de constituintes de parede celular acima de 55 a 60% se correlacionam negativamente com o consumo de forragem (VAN SOEST, 1965; MERTENS, 1987). Visto que os menores valores de FDN obtidos, neste trabalho, em lâminas recém-expandidas e colhidas no outono excedem o valor crítico de 60%, admite-se que o potencial de consumo de forragem pelo ruminante não seja alcançado com as gramíneas estudadas.

Mais baixos teores de proteína foram observados em lâminas do topo e na idade mais avançada (Quadro 11). A variação dos valores entre as espécies foi pequena, embora tenha sido detectada diferença em lâminas recém-expandidas.

Quadro 11 - Teores de proteína bruta (% na MS) na lâmina foliar, conforme o nível de inserção, a idade e a espécie

Nível de inserção	Idade (dias)	Espécie		
		Braquiária	Gordura	Tifton 85
Inferior	0	22,9 ^{Aa}	20,9 ^{Ab}	21,7 ^{Aab}
	20	16,0 ^{Ba}	16,2 ^{Ba}	15,8 ^{Ba}
Superior	0	15,1 ^{Ab}	16,5 ^{Aa}	15,6 ^{Aab}
	20	12,9 ^{Ba}	13,4 ^{Ba}	13,4 ^{Ba}

Médias seguidas de letras diferentes, maiúsculas nas colunas, em cada nível de inserção, e minúsculas nas linhas, entre as espécies, são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Os coeficientes de digestibilidade *in vitro* da lâmina foliar refletem interações da idade com os fatores estação de crescimento, nível de inserção e espécie (Quadro 12). Independente de qualquer outro fator, a digestibilidade apresentou acentuada redução com o aumento da idade, evidenciando que o estágio de desenvolvimento é o mais importante fator a influenciar o valor nutritivo de gramíneas forrageiras, conforme relatos de BUXTON e FALES (1994). Este fato é resultado dos aumentos nas concentrações da FDN e da lignificação da parede celular e redução dos compostos solúveis, com o avanço no desenvolvimento da lâmina foliar. Incrementos nos componentes estruturais e queda nos teores de proteína comprometem a atividade microbiana, determinando diminuição na digestibilidade da forrageira.

A digestibilidade de lâminas recém-expandidas não variou conforme a espécie, mas aos 20 dias de idade foi mais elevada no capim-tifton 85 e mais baixa no capim-braquiária (Quadro 12). Nenhum componente da parede celular variou significativamente entre as gramíneas para explicar a diferença de 5,7 unidades percentuais entre os coeficientes de digestibilidade do capim-tifton 85

Quadro 12 - Coeficientes de DIVMS (%) em lâminas foliares, conforme a idade, a estação de crescimento, o nível de inserção e a espécie

Idade (dias)	Estação de crescimento		Nível de inserção		Espécie		
	Verão	Outono	Inferior	Superior	Capim-braquiária	Capim-gordura	Capim-tifton 85
0	68,1 ^{Ab}	73,4 ^{Aa}	74,9 ^{Aa}	66,6 ^{Ab}	69,7 ^{Aa}	71,6 ^{Aa}	71,0 ^{Aa}
20	63,0 ^{Ba}	63,8 ^{Ba}	65,0 ^{Ba}	61,9 ^{Ba}	60,4 ^{Bb}	63,7 ^{Bab}	66,1 ^{Ba}

Médias seguidas de letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, entre estações de crescimento, níveis de inserção ou espécies, são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

e do capim-braquiária, na idade mais avançada. Ao contrário do esperado, os mais elevados teores de FDN na lâmina do capim-tifton 85 não se associaram aos valores de digestibilidade. Esta aparente contradição, já relatada na literatura (HILL et al., 1998), parece ser explicada pela menor ocorrência de ligações tipo éter envolvendo o ácido ferúlico (Mandebvu et al., 1998, citados por HILL et al., 1998). Conseqüentemente, a digestibilidade da fibra em forragem de capim-tifton 85 parece ser favorecida, devido a menores impedimentos físicos à ação microbiana. Apenas os teores de lignina, diferentes entre as espécies, poderiam explicar a menor digestibilidade em lâminas de capim-braquiária; entretanto, a variação de 0,9 unidades percentuais (Quadro 7) parece pequena para justificar tal diferença.

Os valores de digestibilidade foram mais elevados no outono em lâminas recém-expandidas, não existindo efeito das estações sobre a DIVMS de lâminas com 20 dias de idade. Em geral, mais altos valores de digestibilidade são observados nas estações frias (outono/inverno) que nas estações quentes (primavera/verão) (MACADAM et al., 1996). WILSON (1982), em revisão dos efeitos de fatores climáticos sobre o valor nutritivo de espécies forrageiras, concluiu que a temperatura é o fator mais importante, sendo que a digestibilidade decresce de 0,08 a 1,81 unidades percentuais para cada grau centígrado de elevação na temperatura. Esta queda é atribuída à elevação dos teores de lignina (AKIN e CHESSON, 1989; WILSON et al., 1991), embora

alguns estudos não tenham encontrado aumento da lignificação em temperaturas mais elevadas (DIRVEN e DEINUM, 1977; FALES, 1986). Na literatura, é possível encontrar, ainda, resultados contrários aos apresentados anteriormente, com mais alta digestibilidade em folhas desenvolvidas no verão, quando ocorrem mais altas temperaturas (QUEIROZ et al., 2000a). Este último autor concluiu que o efeito da estação de crescimento sobre a digestibilidade e a composição química de três gramíneas forrageiras foi pequeno e inconsistente.

Maior taxa de declínio na digestibilidade com o avanço da maturidade foi verificada nas estações quentes (JONHSON et al., 1973; MACADAM et al., 1996). Nota-se que as taxas de declínio de 0,48 e 0,26 unidades percentuais/dia na digestibilidade das lâminas com a idade, respectivamente, no outono e no verão, calculadas a partir dos dados do Quadro 12, contradizem os resultados da literatura. Os valores evidenciam que, no verão, no momento da total expansão da lâmina foliar, a digestibilidade já se encontrava mais baixa que no outono, o que pode ter diminuído o efeito da idade sobre a digestibilidade de folhas expandidas no verão.

Lâminas foliares recém-expandidas da posição inferior do perfilho apresentaram mais elevada digestibilidade que as da posição superior. Aos 20 dias de idade, a variação da digestibilidade entre os níveis de inserção não alcançou significância estatística, embora a diferença de 3,1 unidades percentuais em favor da lâmina de inserção inferior possa ter alguma importância para a nutrição animal. A queda mais intensa da digestibilidade, com o avanço da idade em lâminas da posição inferior, pode ser atribuída ao rápido desenvolvimento e precoce início de senescência das folhas primeiramente formadas no perfilho. WILSON (1976a) observou decréscimos de 16,1 e 5,2 unidades percentuais na digestibilidade com a idade, respectivamente, em lâminas da base e do topo do perfilho.

QUEIROZ et al. (2000 b), trabalhando com as gramíneas forrageiras *Pennisetum purpureum*, *Hyparrhenia rufa* e *Setaria anceps*, encontraram mais altos coeficientes de digestibilidade em folhas inseridas no topo do perfilho, em comparação às da base. A discordância entre os resultados ora relatados e os descritos por QUEIROZ et al. (2000a) pode ser atribuída à diferença na metodologia de amostragem do perfilho. Assim, no estudo de QUEIROZ (2000

a) os perfilhos foram colhidos quando a lâmina foliar da base se apresentava em início de senescência, tendo sua digestibilidade reduzida pela maturidade, e a do topo era recém-expandida, o que pode explicar sua alta digestibilidade. Por outro lado, neste trabalho, em que se compararam lâminas foliares de mesma idade, evitou-se confundimento dos efeitos de nível de inserção com os de idade.

Os resultados evidenciam que, mesmo em idades comparáveis, as sucessivas lâminas foliares ao longo do perfilho constituem uma série de estruturas quimicamente diferentes. Lâminas foliares de mais alto nível de inserção apresentaram mais altas concentrações de constituintes da parede celular (FDN, FDA e lignina) e mais baixos teores de proteína e coeficientes de digestibilidade. Lâminas de qualquer nível de inserção apresentaram elevação dos seus teores de FDN e lignina e redução da digestibilidade e, conseqüentemente, do valor nutritivo, com o avanço da idade, principalmente as de mais baixo nível de inserção.

A influência do nível de inserção pode representar implicações para a qualidade da forragem disponível para o animal em regime de pastejo, uma vez que as folhas localizadas na posição superior do perfilho de gramíneas são potencialmente menos digestíveis e mais pobres em proteína que as do estrato inferior. Sendo o consumo de forragem pelo ruminante positivamente correlacionado com a digestibilidade da matéria seca (MINSON e WILSON, 1994), pode-se inferir que o potencial de consumo de lâminas foliares varia inversamente com o nível de inserção no perfilho. Reforça esta hipótese o fato de que a maior proporção de tecidos de sustentação, principalmente feixes vasculares lignificados, em lâminas da posição superior, relativamente às lâminas da base do perfilho (WILSON et al., 1976b), influi negativamente no consumo de forragem pelo animal (MTENGETI et al., 1996; WILMAN et al., 1996). Reconhece-se, entretanto, que grande número de características estruturais do relvado influi no consumo e as inter-relações dessas características provocam as diferenças de consumo dos diversos tipos de relvados. Fatores como relação folha/colmo, densidade de folhas e de perfilhos, altura do relvado, proporção de material morto, entre outros, contribuem para condicionar o consumo de forragem pelo animal em pastejo (MINSON, 1990). Além disso, observação de mais altos teores de FDN e FDA

e menores teores de PB e coeficientes de DIVMS nas folhas do topo, relativamente às da base de mesma idade, é um aparente paradoxo que pode ser explicado pela diferença de idade entre estas folhas. Nesse contexto, as possíveis vantagens nutricionais das folhas da base da planta podem desaparecer em função da mais avançada idade, como relatado por QUEIROZ (2000a). Os dados deste estudo corroboram esta idéia, uma vez que a digestibilidade da lâmina da posição inferior em idade avançada, de 65,0%, foi semelhante à da lâmina recém-expandida da posição superior, de 66,6% (Quadro 10). Relatos da literatura mostram mais larga relação lâmina/colmo na camada mais alta do relvado, o que contribui para o decrescente gradiente de valor nutritivo do topo para a base do relvado (SILVA et al., 1994). Em pastagem de *Pennisetum purpureum* cv. Mott, foi constatado que a matéria seca do estrato inferior (20-40 cm do solo) apresentou digestibilidade semelhante à do estrato superior (>80 cm), quando a pressão de pastejo foi baixa ou alta, e inferior, quando a pressão foi média (SILVA et al., 1994).

A extensão na qual o gradiente químico se expressa em folhas de gramíneas, sob condições de pastejo, e o modo como tais variações alteram o consumo e o desempenho animal não estão totalmente esclarecidos.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Lâminas foliares e segmentos de colmo das gramíneas forrageiras capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*), capim-gordura (*Melinis minutiflora*) e capim-tifton 85 (*Cynodon sp*) foram analisados quanto aos teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), celulose, hemicelulose e lignina e aos coeficientes de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), em duas estações de crescimento: verão e outono. As lâminas, amostradas no momento da exposição da lígula (idade 0) e 20 dias após, situavam-se nas posições inferior e superior do perfilho. Os segmentos de colmo avaliados foram os situados imediatamente abaixo da lâmina da posição superior.

Os teores médios de FDN (81,8%) do colmo foram mais elevados no verão e no estágio de desenvolvimento mais avançado. O colmo de capim-tifton 85 apresentou 8,5 unidades percentuais a menos de FDA que os das outras duas gramíneas, que não diferiram entre si. Mais elevada participação de hemicelulose na fração fibrosa foi observada em capim-tifton 85 (31,8%), enquanto em capim-braquiária e capim-gordura o colmo se destacou pela mais alta concentração de celulose (50,3 e 51,5%, respectivamente).

Os teores médios de PB de lâminas foliares exibiram pequena variação entre as espécies e diminuíram de 18,8 para 14,6%, após 20 dias de expansão, e de 18,9 para 14,5%, entre as lâminas das posições inferior e superior do

perfilho. Lâminas da posição superior apresentaram mais elevados teores de FDN e lignina, independente da espécie, da estação e da idade.

Os coeficientes de DIVMS reduziram consistentemente a partir do momento da expansão da lâmina foliar e foram fortemente influenciados pela estação de crescimento e pelo nível de inserção, principalmente em lâminas recém-expandidas, que exibiram maiores valores, quando situadas no nível inferior e colhidas no outono. Entre as espécies, a DIVMS não variou em lâminas recém-expandidas, mas foi mais elevada em capim-tifton 85 e mais baixa em capim-braquiária em lâminas com 20 dias de idade. A DIVMS do colmo variou de 56,7 a 62,7%, dependendo do estágio de desenvolvimento e da estação. Mais baixo valor foi encontrado em capim-braquiária (56,9%) e mais elevados em capim-tifton 85 (59,6%) e capim-gordura (60,5%).

Os resultados obtidos permitiram as seguintes conclusões:

- Lâminas foliares do nível de inserção superior do perfilho apresentaram mais elevados teores de FDN, FDA e lignina e mais baixos de PB, sendo menos digestíveis e, potencialmente, de mais baixo valor nutritivo que lâminas da base, quando comparadas em mesma idade.

- A idade foi fator preponderante na redução do valor nutritivo de lâminas foliares e segmentos de colmos, via aumentos dos componentes estruturais, FDN, FDA e lignina, e decréscimos nos teores de PB e nos coeficientes de DIVMS.

- Lâminas foliares e colmos exibiram mais alto valor nutritivo no outono, quando se observaram mais baixos teores de FDN, FDA e lignina e mais elevados teores de PB e coeficientes de DIVMS.

CAPÍTULO 2

CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS E DIGESTÃO DE TECIDOS DE LÂMINAS FOLIARES E COLMOS DE GRAMÍNEAS FORRAGEIRAS TROPICAIS

1. INTRODUÇÃO

A anatomia da folha influencia não só a produção de forragem, mas também seu valor nutritivo e o desempenho animal. Os tecidos vegetais apresentam potenciais de digestão diferenciados, do que decorre a associação entre a proporção de tecidos, medida em seções transversais de folhas e colmos, e o valor nutritivo de gramíneas forrageiras (WILKINS, 1972; WILSON, 1976b; BRITO et al., 1999; e QUEIROZ et al., 2000b). Em geral, as células do mesofilo e as do floema de delgada parede celular são rapidamente digeridas (AKIN et al., 1973; CHESSON et al., 1986). As células da epiderme e da bainha parenquimática dos feixes são reconhecidas como de digestão lenta e parcial (AKIN, 1989). Por outro lado, tecidos como o esclerênquima e o xilema, que apresentam parede celular espessa e lignificada, são muito pouco digeridos (AKIN, 1989; WILSON, 1993). Além disso, a elevada proporção destes tecidos em lâminas foliares de gramíneas atua negativamente na apreensão da

forragem, reduzindo o tamanho do bocado e o consumo (WILMAN et al., 1996; MTENGETI et al., 1996).

A estrutura anatômica, característica de gramíneas do tipo C₄, com elevadas proporções de feixes vasculares, esclerênquima e bainha parenquimática dos feixes, compromete o valor nutritivo destas plantas (WILSON, 1997).

Dos tecidos do colmo, apenas o parênquima, em estágio inicial de desenvolvimento, e o floema são rapidamente digeridos, sendo o xilema, a epiderme e o esclerênquima praticamente indigestíveis. A digestibilidade do parênquima decresce à medida que a forrageira se desenvolve (AKIN, 1989).

A quantificação da área ocupada pelos tecidos em uma seção transversal, apesar de bom indicativo do valor nutricional, ignora diferenças de composição química e espessura da parede celular, o que limita o valor da proporção de tecidos como indicador do valor nutritivo (WILSON, 1993). Assim, medidas da espessura da parede das células de determinados tecidos podem complementar as informações da proporção de tecidos. WILSON e MERTENS (1995) sugerem que células com parede espessa apresentam baixa digestibilidade, em razão da reduzida acessibilidade dos microorganismos à parede secundária. Este fato decorre da baixa relação entre a área superficial acessível aos microorganismos e o volume de parede celular a ser digerido. Embora a parede secundária apresente grande espessura, a literatura tem mostrado variada digestão em seções de gramíneas incubadas em líquido ruminal (AKIN, 1982; WILSON et al., 1991; e ENGELS e SCHUURMANS, 1992). Tecidos como o esclerênquima e o xilema, apesar de aparentemente intactos, sofrem digestão parcial, contribuindo, em parte, para o suprimento de energia para o ruminante. Entretanto, com as taxas de digestão normalmente encontradas na literatura (0,015 a 0,02 $\mu\text{m}/\text{hora}$), é de se esperar que células com paredes espessas (acima de 1 μm) não sejam completamente digeridas durante o tempo de residência das partículas no rúmen (CHESSON et al., 1986; WILSON e HATFIELD, 1997), sendo, por isso, os principais resíduos vegetais encontrados nas fezes.

Diferenças anatômicas entre lâminas foliares de diferentes níveis de inserção no perfilho têm recebido pouca atenção em trabalhos científicos. Além disso, nota-se, em alguns estudos, confundimento do efeito do nível de

inserção com o da idade cronológica da folha, porque folhas de diferentes níveis de inserção diferem em idade. WILSON (1976b) mostrou que lâminas foliares de mais alto nível de inserção apresentaram maior proporção de esclerênquima e xilema, paredes celulares mais espessas e menor quantidade de mesofilo que lâminas localizadas na base do perfilho. O aumento da idade da folha de um mesmo nível de inserção não alterou a proporção dos diferentes tecidos, apesar de resultar em aumento da espessura da parede das células do esclerênquima, principalmente em bainhas foliares situadas na posição superior do perfilho.

Considerando a diversidade de gramíneas forrageiras presentes nas pastagens brasileiras e o desconhecimento quase total de suas características anatômicas relacionadas ao valor nutritivo, reconhece-se a importância de estudos que ampliem o conhecimento da anatomia e da digestão dos diferentes tecidos.

Neste trabalho foram avaliadas características anatômicas de lâminas foliares amostradas em dois níveis de inserção no perfilho de gramíneas forrageiras. Foi determinado, também, o efeito da idade sobre a anatomia da lâmina e do colmo, bem como sobre a digestão *in vitro* dos diferentes tecidos. Com o objetivo de se avaliar a influência da estação do ano sobre as características anatômicas, os perfilhos foram amostrados no verão e no outono.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Descrição do experimento

Foram estudadas as gramíneas forrageiras capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*), capim-gordura (*Melinis minutiflora*) e capim-tifton 85 (*Cynodon sp.*). O experimento foi desenvolvido nas dependências do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, no período de dezembro de 1998 a junho de 1999. Descrição da condução do experimento no campo e retirada das amostras está detalhada no item 2.1 do capítulo 1. Brevemente, de perfilhos previamente marcados, foram amostradas folhas situadas nas posições inferior e superior do perfilho no momento da exposição da lígula (idade 0) e 20 dias após. Os segmentos de colmo amostrados foram os situados imediatamente abaixo da folha do nível de inserção superior.

2.2. Análises anatômicas

As avaliações anatômicas foram desenvolvidas no laboratório de Anatomia, pertencente ao Departamento de Biologia Vegetal da UFV.

No momento pré-determinado (dia do aparecimento da lígula ou 20 dias após o aparecimento da lígula), os perfilhos foram colhidos para a

obtenção das lâminas foliares e dos segmentos de colmo de interesse às análises anatômicas. De uma porção mediana da lâmina e do segmento de colmo amostrados foi retirado um segmento de aproximadamente 1 cm, que foi colocado em fixador FAA 50 (formol a 40%, álcool a 50% e ácido acético glacial), em uma proporção aproximada, volume do fixador/volume de tecido vegetal, de 20 a 30 vezes.

Três fragmentos de cada fração (lâmina foliar e colmo) foram submetidos à série alcoólica progressiva para desidratação. Após inclusão em “paraplast”, os fragmentos foram seccionados transversalmente a 10 µm, com uso de micrótomo rotatório, desparafinizados, efetuando-se a coloração quádrupla triarca dos tecidos (HAGQUIST, 1974) e a montagem de lâminas permanentes.

A avaliação da contribuição de cada tecido para a área total da seção foi realizada em uma área entre dois feixes vasculares maiores, incluindo um deles, localizada na porção mediana entre a nervura mediana e a margem da lâmina foliar. No colmo, foi avaliada uma região entre o centro e a epiderme. A mensuração dos tecidos foi feita com auxílio do microscópio de luz e do Software de Análise de Imagens, modelo Image Pro Plus versão 1.3. Na lâmina foliar, foram medidas as áreas das epidermes (EPI) (adaxial e abaxial), do esclerênquima (ESC), da bainha parenquimática dos feixes vasculares (BPF), do xilema mais fibras associadas (XIL) e do floema (FLO). A região do mesofilo (MES) (parênquima clorofiliano) foi calculada pela diferença entre a área total da seção transversal e as áreas dos demais tecidos. No colmo, foram mensuradas as áreas da EPI, XIL, FLO, ESC e parênquima (PAR). Na figura 1, são mostradas seções transversais da lâmina foliar e do colmo, com indicação dos tecidos avaliados.

Avaliações da espessura da parede das células do ESC e dos vasos de metaxilema (MET) na lâmina e no colmo foram realizadas em 20 células, por repetição. Foram medidas as paredes das células de ESC, associadas aos feixes vasculares maiores, na lâmina foliar, e aquelas situadas entre dois feixes, no colmo. Os vasos de MET foram medidos nos feixes vasculares maiores.

O registro das imagens foi realizado copiando-se as imagens armazenadas na memória do computador para um disco flexível de 3,5”.

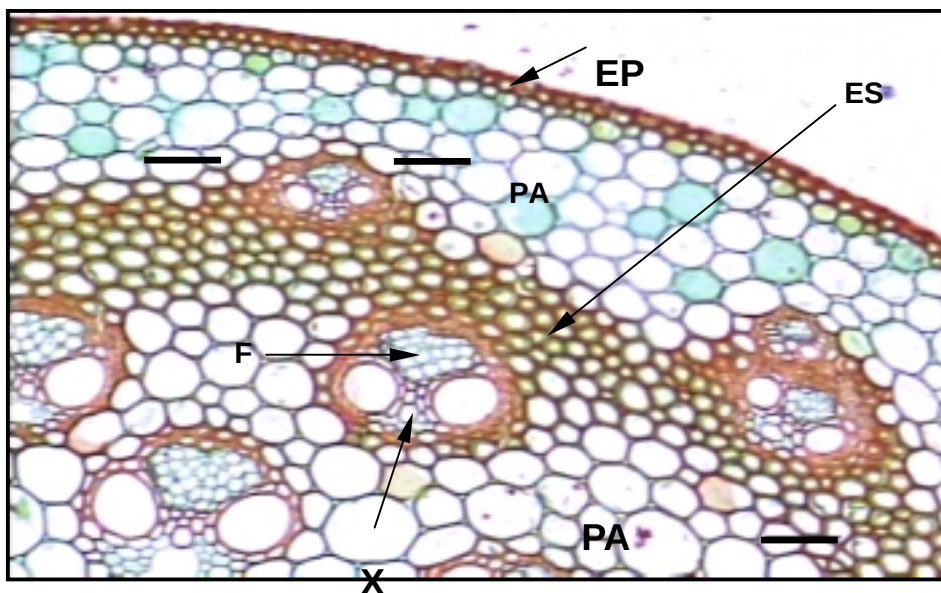
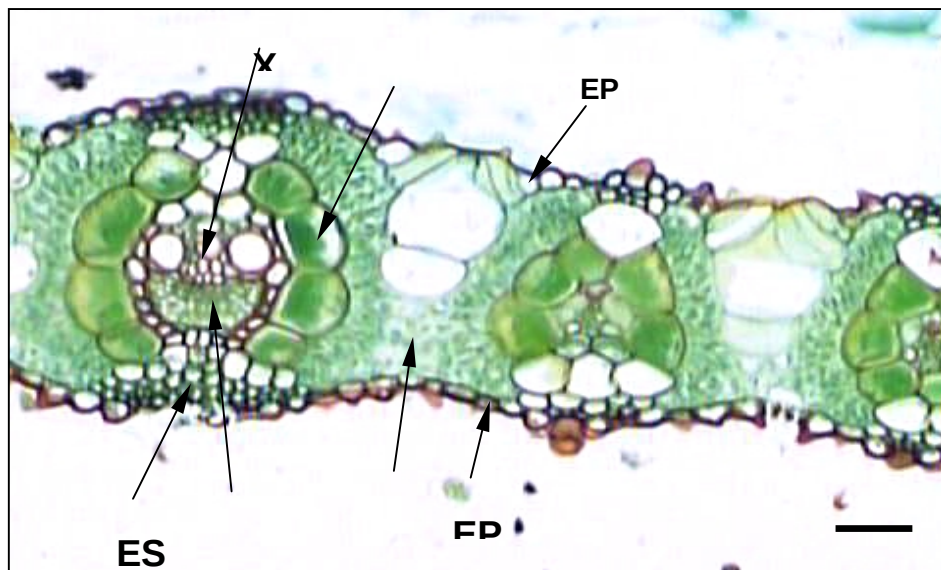


Figura 1 – Seções transversais de lâmina foliar (A) e de colmo (B) de capim-tifton 85 e capim-braquiária, respectivamente. EP – epiderme, ES – esclerênquima, BP – bainha parenquimática dos feixes, M – mesofilo, PA – parênquima, X – xilema e F – floema. (A 25 μ m e B 50 μ m).

2.3. Avaliação da digestão *in vitro* dos tecidos

Após as colheitas dos perfilhos para análises anatômicas, outro grupo de perfilhos foi identificado para avaliação da digestão dos tecidos. Após colhidos, os perfilhos foram congelados em nitrogênio líquido e, em seguida, armazenados em freezer à temperatura de -80°C , para posteriores análises de digestão dos tecidos.

Foram estudados os efeitos de espécie e idade (0 e 20 dias após expansão foliar) sobre a digestão dos tecidos, visto que se optou apenas pelas frações provenientes do nível de inserção superior e colhidas no verão.

Os perfilhos retirados do freezer permaneceram por uma noite em geladeira. Após descongelamento, foram dissecados em lâmina e segmento de colmo (mesmo procedimento utilizado para análises anatômicas). Para avaliação da digestão dos tecidos, seguiu-se metodologia descrita por AKIN (1982), com modificações propostas por WILSON et al. (1991). Da porção mediana da lâmina e do segmento de colmo de dois perfilhos de cada tratamento foram retirados segmentos de aproximadamente 2 cm, que, em seguida, foram seccionados transversalmente em micrótomo de mão a aproximadamente 100 μm . Três seções de cada segmento foram montadas em fita adesiva de face dupla, previamente aderida à lâmina de microscópio. Até que todas as lâminas fossem montadas com os cortes transversais, estas permaneceram em recipiente com água destilada. Em seguida, foram colocadas em tubos contendo uma mistura líquido ruminal:solução tampão de McDougall na proporção de 1:1.

Outro grupo de três seções retiradas das mesmas frações destinadas à incubação foi também montado em lâminas de microscópio com fita adesiva de face dupla, porém não foi incubado em líquido de rúmen. Estas seções foram imediatamente levadas ao microscópio acoplado ao sistema analisador de imagens, para a determinação da espessura da parede das células do ESC. Foram realizadas 20 medidas por seção. A técnica utilizada não permitiu obtenção de imagens de ótima qualidade para avaliação dos cortes transversais das lâminas foliares, motivo pelo qual optou-se pela medição da espessura da parede das células do ESC do colmo, apenas.

Após 46 h de incubação, as lâminas foram retiradas dos tubos e lavadas cuidadosamente com água destilada, sendo cobertas com lamínulas e examinadas em microscópio. Com o uso do sistema analisador de imagens, foram medidas as espessuras da parede das células do ESC do colmo, com objetivo de se detectar possível redução na espessura, decorrente da digestão. As imagens dos tecidos da folha e do colmo foram registradas antes e depois da incubação, para posterior estimativa do desaparecimento dos tecidos.

2.4. Análises estatísticas

Os resultados referentes à proporção de tecidos e espessura da parede celular foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa SAEG - Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV, 1995), para verificação dos efeitos da espécie, da idade e da estação de crescimento, para as lâminas foliares e os colmos, além do efeito do nível de inserção no perfilho, para as lâminas, apenas. As análises de variância para as frações lâmina foliar e colmo foram feitas segundo os modelos descritos no capítulo 1.

As interações significativas foram desdobradas e as médias, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Proporção de tecidos

3.1.1. Colmo

A proporção de EPI do colmo, que foi de 2,8% da seção transversal, não variou com os fatores estudados.

O efeito de estação sobre as proporções de XIL e FLO não foi consistente (Quadro 1). Assim, maiores proporções foram observadas no verão, para o capim-tifton 85, e no outono, para o capim-gordura, enquanto, em capim-braquiária, as proporções de XIL e FLO não variaram com a estação do ano. Em qualquer das estações, o capim-gordura apresentou maiores proporções de XIL e FLO.

A proporção de PAR variou ($P < 0,01$) inversamente com a idade do colmo, em capim-gordura, e não foi influenciada ($P < 0,05$) pela estação do ano, senão em capim-tifton 85, em que maior proporção foi observada no outono (Quadro 2). Por outro lado, a área relativa de ESC aumentou ($P < 0,05$) com o avanço da idade e foi maior, em geral, na estação do verão (Quadro 3). O colmo de capim-gordura exibiu a mais baixa proporção de ESC, quando jovem, e a mais alta, quando em idade mais avançada.

Quadro 1 - Proporção de xilema (XIL) e floema (FLO) (% da seção transversal) em segmentos de colmo, conforme a espécie e a estação de crescimento

Espécie	Estação de crescimento	
	Verão	Outono
	----- XIL -----	
Capim-braquiária	15,6 ^{Ba}	16,7 ^{Ba}
Capim-gordura	24,8 ^{Ab}	27,6 ^{Aa}
Capim-tifton 85	15,2 ^{Ba}	12,5 ^{Cb}
	----- FLO -----	
Capim-braquiária	3,4 ^{Ba}	3,7 ^{Ba}
Capim-gordura	4,2 ^{Ab}	4,8 ^{Aa}
Capim-tifton 85	3,9 ^{ABa}	3,1 ^{Bb}

Médias com letras iguais, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, em cada tecido, não diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Quadro 2 – Proporção de parênquima (% na seção transversal) em segmentos de colmo, conforme a estação de crescimento, a idade e a espécie

Espécie	Estação de crescimento		Idade	
	Verão	Outono	Jovem	Avançada
Capim-braquiária	70,9 ^{Aa}	69,9 ^{Ba}	71,8 ^{Aa}	68,9 ^{Aa}
Capim-gordura	61,5 ^{Ba}	58,4 ^{Ca}	67,8 ^{Ba}	52,0 ^{Bb}
Capim-tifton 85	70,0 ^{Ab}	74,8 ^{Aa}	73,8 ^{Aa}	70,9 ^{Aa}

Médias com letras iguais, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, entre as estações do ano ou os estádios de desenvolvimento, não diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

O aumento da proporção de ESC, com o avanço da idade, pode ser atribuído às alterações sofridas pelas células parenquimáticas durante o desenvolvimento do colmo. Colmos jovens são altamente digestíveis (HACKHER e MINSON, 1981), mas, com o desenvolvimento, parte das células parenquimáticas apresenta progressivo espessamento e lignificação da parede,

Quadro 3 – Proporção de esclerênquima (% na seção transversal) em segmentos de colmo, conforme a estação de crescimento, a idade e a espécie

Idade	Estação de crescimento		Espécie		
	Verão	Outono	Capim-braquiária	Capim-gordura	Capim-tifton 85
Jovem	4,2 ^{Ba}	4,0 ^{Ba}	6,3 ^{Ba}	2,1 ^{Bb}	5,9 ^{Ba}
Avançada	11,6 ^{Aa}	8,7 ^{Ab}	8,6 ^{Ab}	13,5 ^{Aa}	8,1 ^{Ab}

Médias com letras iguais, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, entre as estações do ano ou as idades, não diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

formando um rígido e indigestível anel de células esclerenquimáticas. Este comportamento está relacionado à intensa redução na digestibilidade de colmos, com o avançar da idade.

Os tecidos resistentes à digestão representaram 28,9% da seção transversal do segmento de colmo, considerando-se os valores médios das proporções de EPI (2,8%), XIL (18,7%) e ESC (7,4%). A pequena área ocupada por estes tecidos de parede celular espessada e lignificada parece não refletir o efeito negativo que estes exercem sobre a digestão do colmo. Entretanto, em *Sorghum bicolor*, apesar destes tecidos ocuparem apenas 20% da área da seção, contribuíram com 50% do peso seco do entrenó, 75% do total de parede celular e 67% da parede celular indigestível, (WILSON et al., 1993). Por outro lado, as células de parênquima, que ocuparam a maior área da seção (80%), contribuíram com 47% do peso seco, 21% do conteúdo de parede celular e 26% da parede indigestível.

3.1.2. Lâmina foliar

O capim-tifton 85 apresentou, na lâmina foliar, mais alta ($P < 0,05$) proporção de epiderme adaxial (18,3% contra 16,1 e 16,8% da seção transversal de lâminas de capim-gordura e capim-braquiária, respectivamente)

e mais baixa ($P<0,05$) de epiderme abaxial (6,9%) que o capim-braquiária (9,2%) e o capim-gordura (8,8%), que não diferiram entre si.

À lâmina foliar do capim-gordura correspondeu maior ($P<0,01$) proporção de XIL (6,5%), que não diferiu entre o capim-tifton 85 (5,5%) e o capim-braquiária (5,1%). Por outro lado, o capim-tifton 85 apresentou mais alta ($P<0,01$) proporção de FLO que as duas outras espécies.

A proporção de tecidos não variou com a idade, nem com a estação de crescimento, com exceção da mais elevada ($P<0,05$) proporção de XIL em lâminas colhidas no verão (6,4%), quando comparadas às do outono (5,1%).

Os resultados obtidos neste trabalho são consistentes com a literatura, segundo a qual são pequenos e inconsistentes os efeitos da idade e de fatores climáticos sobre a proporção de tecidos de lâminas foliares (WILSON et al., 1991; PACIULLO et al., 1999; e QUEIROZ et al., 2000b). Por essa razão, decréscimos na digestibilidade de forrageiras, com o aumento da temperatura e o avanço do desenvolvimento, normalmente citados na literatura, não devem ser atribuídos a alterações na proporção de tecidos da folha. WILSON et al. (1991) apontam a intensa lignificação da parede celular como o principal fator a atuar negativamente na digestibilidade de gramíneas forrageiras que se desenvolvem sob elevadas temperaturas.

A interação nível de inserção x espécie foi significativa ($P<0,01$) para a proporção de MES, ESC e BPF (Quadro 4). As proporções de ESC e BPF foram mais altas nas lâminas da posição superior, com exceção da proporção de ESC em capim-braquiária e de BPF em capim-tifton 85. Por outro lado, lâminas da posição inferior apresentaram maior proporção de MES, exceto para o capim-tifton 85, cuja proporção de MES não variou em função de seu nível de inserção. Apesar de não alcançarem significância estatística, as proporções de MES, em capim-tifton 85, e de ESC, em capim-braquiária, mostraram tendências semelhantes às demais espécies com a variação do nível de inserção. Maiores proporções de MES e ESC foram encontradas no capim-tifton 85, independente do nível de inserção.

Lâminas da posição superior do perfilho apresentaram maior ($P<0,01$) proporção de XIL, independente da idade, da espécie e da estação do ano.

Quadro 4 - Proporção de esclerênquima (ESC), bainha parenquimática dos feixes (BPF) e mesofilo (MES) (% na seção transversal) em lâminas foliares, conforme a espécie e o nível de inserção

Nível de inserção	Espécie		
	Capim-braquiária	Capim-gordura	Capim-tifton 85
	ESC		
Inferior	0,83 ^{Ab}	0,86 ^{Bb}	2,30 ^{Ba}
Superior	1,00 ^{Ab}	1,42 ^{Ab}	2,86 ^{Aa}
	BPF		
Inferior	28,7 ^{Ba}	27,0 ^{Ba}	22,9 ^{Ab}
Superior	32,1 ^{Aa}	33,2 ^{Aa}	22,1 ^{Ab}
	MES		
Inferior	39,8 ^{Ab}	38,2 ^{Ab}	43,7 ^{Aa}
Superior	35,8 ^{Bb}	29,7 ^{Bc}	41,4 ^{Aa}

Médias com letras iguais, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, em cada tecido, não diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Foram encontrados valores de 6,3 e 5,0%, respectivamente, para lâminas das posições superior e inferior do perfilho.

Os resultados mostram mudanças na proporção de tecidos da lâmina foliar, conforme o nível de inserção da folha no perfilho. Estes dados são consistentes com os relatos de WILSON (1976b), que evidenciam um gradiente nas proporções dos tecidos da folha ao longo do perfilho de *Panicum maximum* var. trichoglume. Com base nos resultados obtidos em condições controladas de ambiente, esse autor sugeriu que a variação na anatomia da folha com o nível de inserção é um fenômeno inerente ao desenvolvimento do perfilho e, provavelmente, se expresse em grande parte das gramíneas.

Lâminas foliares do topo do perfilho sendo mais longas (GOMIDE, 1997; QUEIROZ, 1997) necessitam de forte suporte estrutural para manter sua conformação ereta, sendo este suporte formado, principalmente, pelo XIL e pelo ESC associado. Assim, as percentagens de ESC e XIL na seção transversal da lâmina foliar mostram altas correlações ($r = 0,93$ e $0,95$, respectivamente) com o tamanho da folha (WILSON, 1976b). Tais tecidos são

resistentes à digestão, o que explica, em parte, a menor digestibilidade de lâminas de mais altos níveis de inserção, quando comparadas em uma mesma idade, com lâminas da base do perfilho (WILSON, 1976a; capítulo 1 desta tese).

3.2. Espessura e lignificação da parede celular

3.2.1. Colmo

A espessura da parede de células do ESC aumentou ($P < 0,01$) com o avanço da idade e foi maior, em geral, na estação do verão (Quadro 5), embora só tenha sido observada significância para efeito de estação em segmentos de colmo de capim-braquiária e capim-tifton 85 em idade avançada. Os incrementos na espessura da parede celular e as taxas de espessamento considerando o aumento de 20 dias na idade do colmo foram, respectivamente, de 1,83 μm e 0,09 $\mu\text{m}/\text{dia}$ para capim-braquiária, 1,23 μm e 0,06 $\mu\text{m}/\text{dia}$ para capim-gordura e 1,20 μm e 0,06 $\mu\text{m}/\text{dia}$ para capim-tifton 85. A espessura da parede dos vasos de MET (Quadro 5) aumentou ($P < 0,05$) com a idade, porém os incrementos de 0,22; 0,46; e 0,11 μm , respectivamente, para capim-braquiária, capim-gordura e capim-tifton 85, foram substancialmente menores que os observados em células do ESC.

A utilização da coloração quádrupla triarca permitiu detectar a presença de sítios de lignificação na parede celular, indicados pela coloração vermelha. Com o avanço do desenvolvimento, observaram-se no ESC, aumentos da espessura da parede celular e da lignificação, sendo que no verão estes processos foram mais intensos que no outono (Figura 2). Com o avanço da idade, ocorreram, também, espessamento e lignificação das paredes das células da epiderme, que, juntamente com a camada de cutícula na superfície externa da epiderme, dificultam a penetração e a digestão desta células (WILSON, 1993).

Confirmando os relatos de TERASHIMA et al. (1993), observou-se que o processo de lignificação primeiro acontece nas paredes dos vasos do

Quadro 5 - Espessura da parede (μm) de células do esclerênquima (ESC) e dos vasos de metaxilema (MET) em segmentos de colmo, conforme a idade, a estação de crescimento e a espécie

Idade	Estação de crescimento	Espécie		
		Capim-braquiária	Capim-gordura	Capim-tifton 85
		ESC		
Jovem	Verão	1,43 ^{Aa}	0,89 ^{Ab}	1,28 ^{Aa}
	Outono	1,29 ^{Aa}	0,63 ^{Ab}	1,07 ^{Aa}
Avançada	Verão	3,74 ^{Aa}	2,08 ^{Ac}	2,72 ^{Ab}
	Outono	2,64 ^{Ba}	1,90 ^{Ab}	2,03 ^{Bb}
		MET		
Jovem	-	1,71 ^{Ba}	1,31 ^{Bb}	1,54 ^{Aa}
Avançada	-	1,93 ^{Aa}	1,77 ^{Aab}	1,65 ^{Ab}

Médias com letras iguais, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, entre as estações do ano ou as idades, não diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

protoxilema; em seguida, prossegue para os vasos do metaxilema e para o anel esclerenquimático: primeiro nos cantos das células e na camada da lamela média, em seguida na parede primária (Figura 3). A lignificação acontece por último na parede secundária, após o término da deposição de suas camadas S1, S2 e S3 (ENGELS e SCHUURMANS, 1992; TERASHIMA et. al, 1993).

3.2.2. Lâmina foliar

Lâminas recém-expandidas de capim-braquiária apresentaram maior ($P < 0,05$) espessura da parede das células do esclerênquima, enquanto, em lâminas com 20 dias de idade, não se observou diferença entre as espécies (Quadro 6). A espessura da parede em células do ESC aumentou ($P < 0,05$) com a idade em capim-tifton 85 e capim-gordura, não se alterando, contudo, em capim-braquiária.

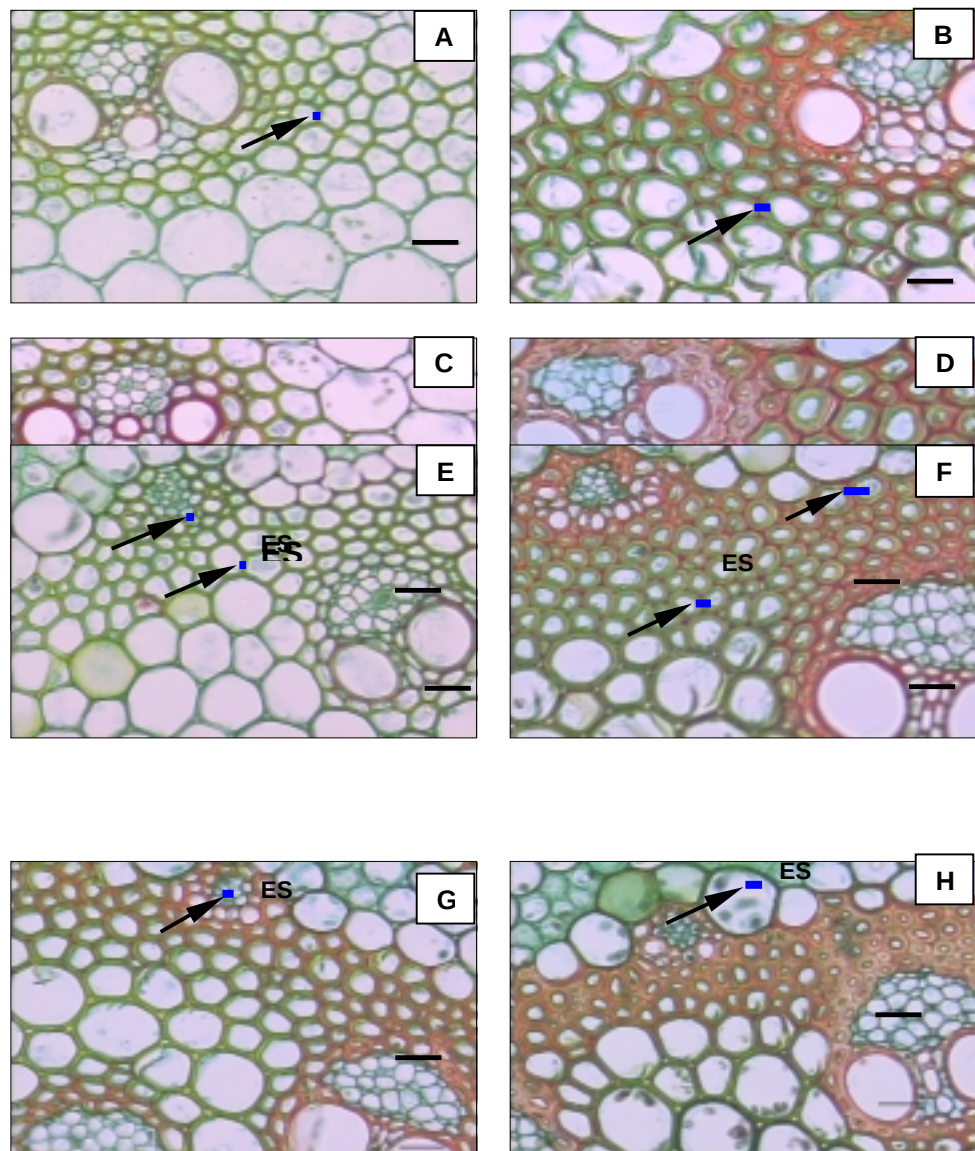


Figura 2 - Seções transversais de segmentos de colmo mostrando espessamento e lignificação da parede de células do esclerênquima (ES). (A) e (C) colmo jovem de capim-braquiária no outono e verão, respectivamente, (B) e (D) colmo em idade avançada de capim-braquiária no outono e verão, respectivamente, (E) e (G) colmo jovem de capim-tifton 85 no outono e verão, respectivamente, (F) e (H) colmo em idade avançada de capim-tifton 85 no outono e verão, respectivamente. → — parede celular. (— 15 µm).

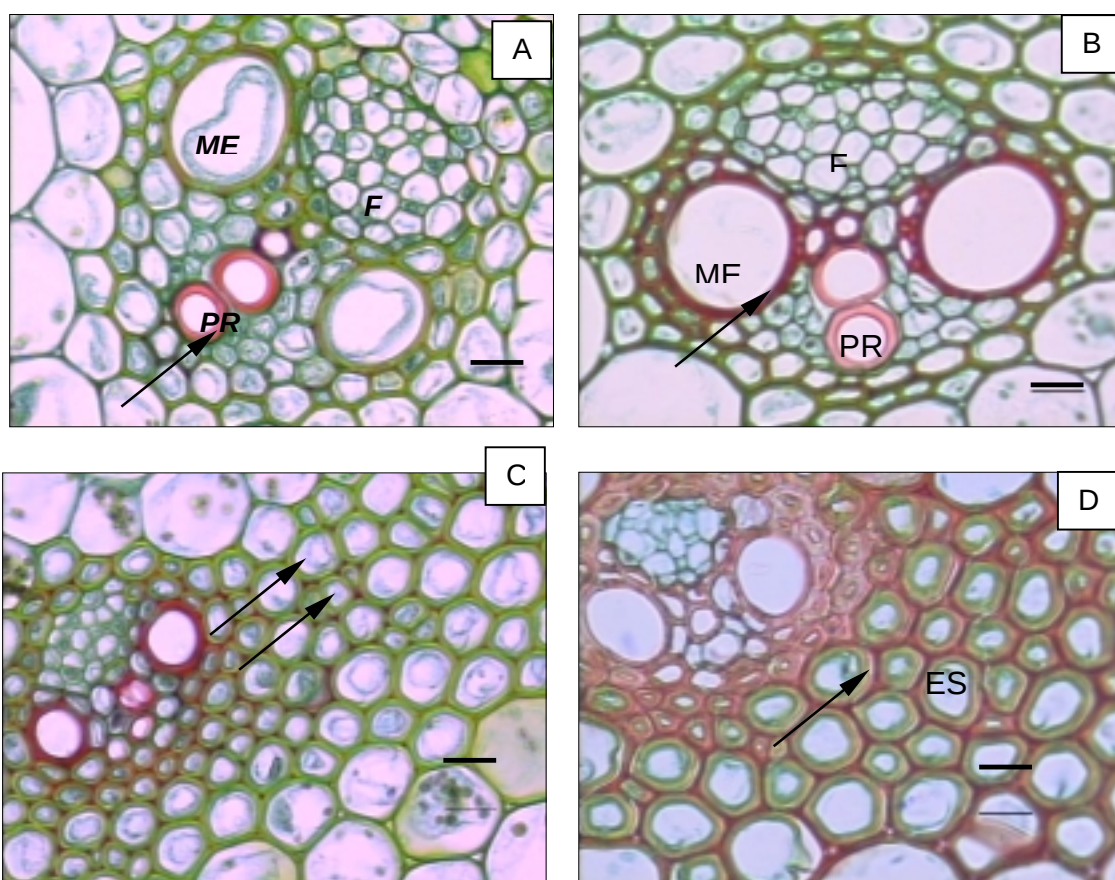


Figura 3 – Seções transversais de segmentos de colmo de capim-braquiária. Seqüência de lignificação: (A) protoxilema (PR), (B) metaxilema (ME), (C) e (D) esclerênquima (ES). F - floema. (—→ deposição de lignina; — 15 μm).

Quadro 6 - Espessura da parede de células do esclerênquima de lâminas foliares, conforme a idade e a espécie

Idade	Espécie		
	Braquiária	Gordura	Tifton 85
0	1,73 ^{Aa}	1,56 ^{Bb}	1,62 ^{Bab}
20	1,78 ^{Aa}	1,76 ^{Aa}	1,80 ^{Aa}

Médias com letras iguais, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Lâminas do nível de inserção superior do perfilho apresentaram paredes celulares mais espessas ($P < 0,05$) que lâminas da base. Os valores foram de 2,01 e 1,41 μm , para espessura das paredes do ESC, e de 1,30 e 1,06 μm , para espessura das paredes do MET, respectivamente, para lâminas das posições superior e inferior do perfilho. Tal comportamento reforça a hipótese de que lâminas do nível de inserção superior, por serem mais longas, requerem estrutura de suporte mais desenvolvida, com maior proporção de tecidos de sustentação (ESC e XIL) e paredes celulares mais espessas.

3.3. Digestão de tecidos

3.3.1. Colmo

No estudo de digestão de tecidos, foi feita análise qualitativa do desaparecimento dos tecidos da lâmina foliar e do colmo. As células do PAR e do FLO de colmos jovens foram totalmente digeridas, independente da espécie. A EPI, o XIL e o ESC permaneceram aparentemente intactos (Figura 4). O desenvolvimento foi fator preponderante de alterações anatômicas e digestivas do colmo. Assim, o decréscimo na proporção de PAR, associado aos aumentos em área do ESC e da espessura da parede celular, com o avanço do desenvolvimento, resultou em menor digestão das seções de

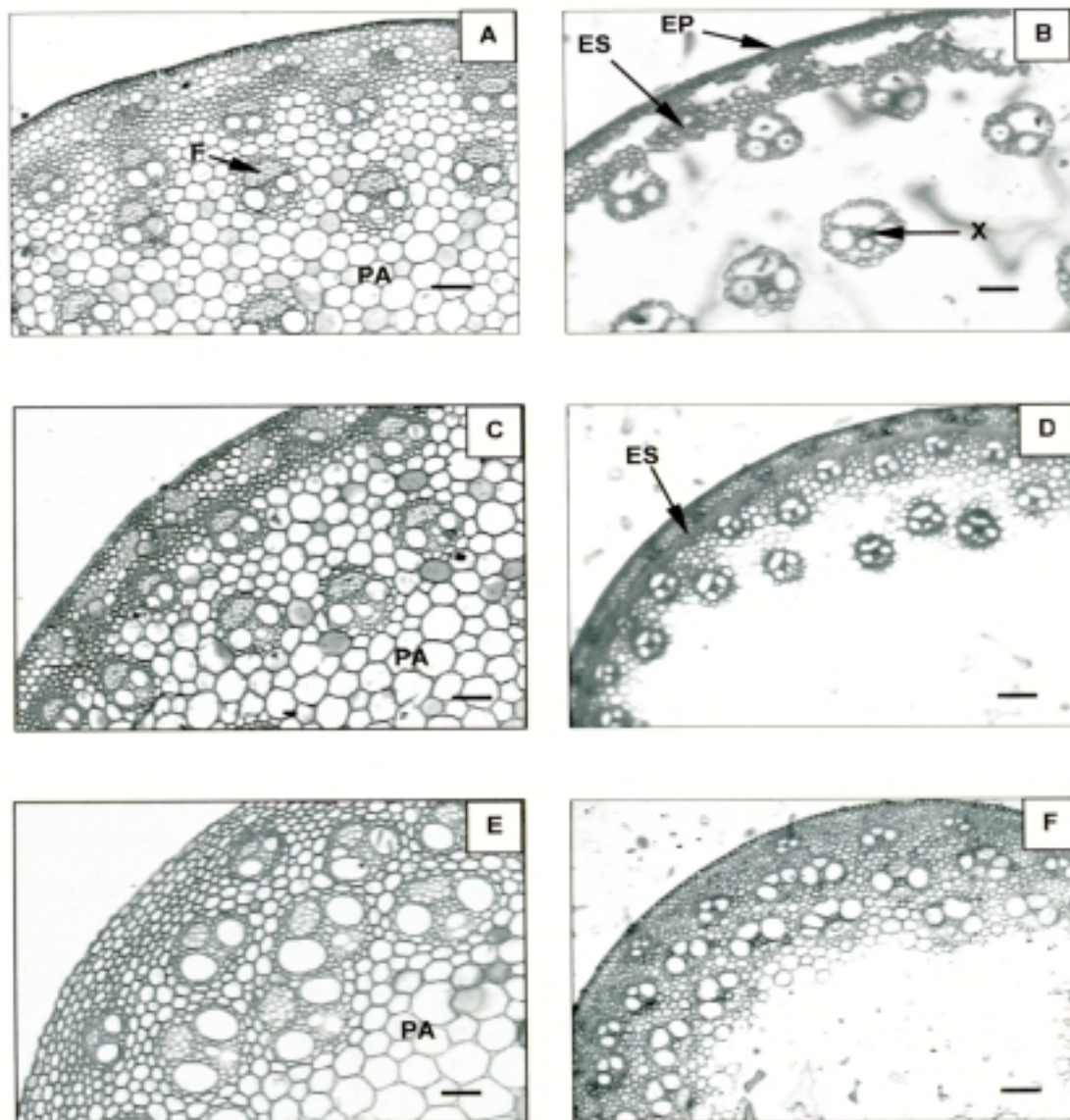


Figura 4 – Digestão de tecidos em seções transversais de segmentos de colmo. (A) e (B) capim-tifton 85 - colmo jovem; (C) e (D) capim-tifton 85 - colmo em idade avançada e (E) e (F) capim-gordura - colmo em idade avançada. A, C e E - não-incubados; B, D e F - incubados por 46 h. ES - esclerênquima, EP - epiderme, PA - parênquima, X - xilema e F - floema. (A, B, C e E — 50 μm e D e F — 125 μm).

colmo, notadamente em capim-gordura (Figura 4). Enfatiza-se que aumento mais expressivo em área de ESC, com o desenvolvimento do colmo, e maior proporção de XIL foram observados em capim-gordura. Em colmos maduros, a EPI, o ESC, o XIL, além das células de PAR próximas ao ESC, permaneceram não-digeridos. O decréscimo na digestão do PAR, com a idade do colmo, pode ser atribuído à progressiva deposição de compostos fenólicos na parede destas células (AKIN et al., 1984; AKIN, 1989).

Estimativas da digestão baseadas na técnica usada neste trabalho são fundamentadas no desaparecimento de células ou tecidos. Assim, a digestão não foi suficiente para alterar a integridade do tecido esclerenquimático, mesmo em colmos jovens, quando ainda não havia ocorrido deposição de lignina, e a parede secundária não estava totalmente formada. Por outro lado, apesar deste tecido manter sua integridade após a incubação, observaram-se, por meio de medições e visualizações, digestão da parede secundária e redução da espessura da parede (Quadro 7). A extensão de digestão da parede celular do esclerênquima é ilustrada na Figura 5, comparando células idênticas em seções não-incubadas e incubadas por 46 h. A percentagem de redução variou de 7 a 37% e as taxas de redução da espessura, de 0,007 a 0,018 $\mu\text{m/h}$ (Quadro 7). Outros autores relataram diminuição da espessura da parede celular após incubação em líquido ruminal, com taxas variando de 0,015 a 0,030 $\mu\text{m/h}$ (WILSON et al., 1991; AKIN e HARTLEY, 1992), dependendo da espécie, do tempo de digestão, da metodologia de avaliação, entre outros fatores.

O aumento da idade do colmo não concorreu para a redução na taxa de digestão da parede celular. Pelo contrário, as taxas foram semelhantes em capim-braquiária e capim-tifton 85 e aumentaram de 0,010 para 0,018 $\mu\text{m/h}$ em capim-gordura (Quadro 7), com o avanço da idade. Este fato sugere que o aumento da lignificação na parede secundária, com o desenvolvimento do colmo, não influenciou na taxa de digestão. Relatos da literatura mostram que a parede secundária sofre diferente grau de digestão (WILSON et al., 1991; AKIN e HARTLEY, 1992), enquanto a lamela média e a parede primária lignificadas

Quadro 6 - Espessura da parede de células do esclerênquima de segmentos de colmo de gramíneas forrageiras, antes e após incubação em líquido ruminal por 46 h e redução da espessura, conforme a idade e a espécie

Espécie	Idade							
	Jovem				Avançada			
	Espessura da parede (μm)		Redução na espessura (%)	Taxa de digestão ($\mu\text{m/h}$)	Espessura da parede (μm)		Redução na espessura (%)	Taxa de digestão ($\mu\text{m/h}$)
	NI*	I ⁺			NI	I		
Braquiária	1,33	1,00	24,8	0,007	4,88	4,54	7,0	0,007
Gordura	1,27	0,80	37,0	0,010	2,62	1,79	31,7	0,018
Tifton 85	1,49	0,93	37,6	0,012	3,58	3,13	12,6	0,010

* NI – não-incubado.

⁺ I – incubado.

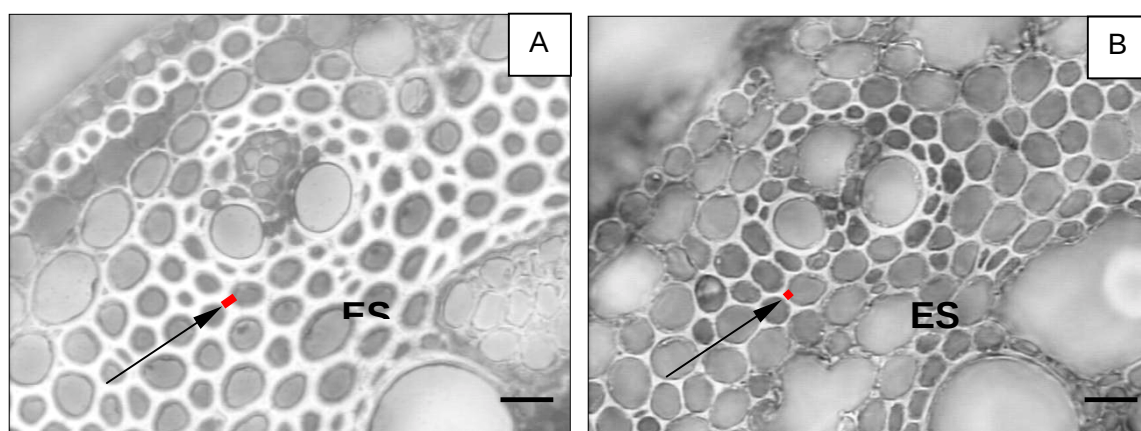


Figura 5 – Seção transversal de segmento de colmo de capim-braquiária antes (A) e após (B) digestão por 46 h. ES - esclerênquima. —→■ parede celular. (— 15 μm).

permanecem intactas após três semanas de digestão (ENGELS e SCHURMANS, 1992; WILSON et al., 1993). Este fato decorre das diferenças em composição da lignina presente nas diversas camadas da parede celular. Assim, a lamela média e a parede primária apresentam lignina rica em unidades do tipo guaiacil, mais ramificada e estreitamente associada aos polissacarídeos e, conseqüentemente, mais prejudicial à digestão que a lignina rica em unidades do tipo siringil, predominantemente encontrada na parede secundária (JUNG e DEETZ, 1993).

Com a maior taxa de digestão ($0,018 \mu\text{m/h}$) e o tempo de incubação de 46 h, estima-se que a máxima redução da parede celular foi de $0,83 \mu\text{m}$, ainda assim, substancialmente inferior à menor espessura observada ($1,27 \mu\text{m}$) (Quadro 7). Portanto, mesmo na ausência da lignificação, como em colmos jovens (Figura 2), a digestão da parede celular não se completou durante o tempo de incubação em líquido ruminal. Este fato sugere que, em células com parede espessa (acima de $1 \mu\text{m}$), as limitações à digestão se originam, principalmente, de problemas estruturais, conforme a hipótese de WILSON e MERTENS (1995) e WILSON e HATFIELD (1997) de que a baixa acessibilidade à parede secundária, resultante da sua elevada espessura, reduz a extensão da digestão da parede celular pelos microrganismos ruminais. Por essa razão, a digestão de células com parede espessada não se completa durante o tempo de permanência das partículas no rúmen, sendo os principais resíduos de gramíneas encontrados nas fezes.

3.3.2. Lâmina foliar

A utilização da técnica da fita de face dupla aderida à lâmina de microscópio não permitiu obtenção de imagens de ótima qualidade para avaliação das lâminas foliares, dificultando, às vezes, a observação do desaparecimento dos tecidos. Por outro lado, a metodologia apresenta algumas vantagens como as citadas por ENGELS (1996): rapidez no preparo e na comparação das amostras, possibilidade de avaliar grande número de seções, antes e após a digestão em líquido de rúmen, e a manutenção do

arranjo anatômico dos tecidos não-digeridos após a incubação, visto que, as seções da planta não são manuseadas após aderidas à fita.

Em geral, lâminas recém-expandidas apresentaram maiores áreas digeridas. Permaneceram intactos a BPF, o ESC e o XIL, enquanto o MES e o FLO desapareceram totalmente, independente da espécie (Figura 6). A EPI das três espécies apresentou digestão parcial. A digestão do MES de lâminas aos 20 dias de idade de capim-braquiária e capim-gordura não foi completa. Em espécies de *Panicum maximum* cultivadas no período seco do ano, LEMPP et al. (1998) observaram resíduos de células do MES após incubação por 72 h. Por meio de testes histoquímicos, os autores detectaram, em algumas regiões do mesofilo, a presença de compostos fenólicos. Este fato também foi constatado por AKIN (1989). Neste estudo, é provável que compostos fenólicos tenham sido depositados na parede das células do MES, com o avanço do desenvolvimento, reduzindo a taxa de digestão de lâminas com 20 dias de idade. Por outro lado, em lâminas de capim-tifton 85, a idade não alterou o desaparecimento das células do MES, que, juntamente com o FLO, foi completamente digerido. A EPI sofreu digestão parcial e o XIL, a BPF e o ESC permaneceram intactos.

A literatura tem mostrado resultados variados para digestão de tecidos foliares de gramíneas tropicais. Células com parede delgada e não-lignificada, como as do FLO e as do MES, são complemente digeridas após período de incubação de 12 a 24 h (AKIN et al., 1983; HASTERT et al., 1983), apesar de que, algumas vezes, a digestão não é completa após incubação por 48 horas (TWIDWELL et al., 1989; WILSON et al., 1991; e LEMPP et al., 1998). Para a BPF e a EPI, a digestão é parcial após período de incubação entre 24 e 48 h (AKIN et al., 1983; BOHN et al., 1988; e WILSON et al., 1991), embora alguns autores tenham encontrado desaparecimento total das células da epiderme após incubação por 24 h (AKIN e BURDICK, 1975; AKIN et al., 1983). Os tecidos que apresentam células com paredes espessadas e lignificadas, como o XIL e o ESC, são praticamente indigestíveis, permanecendo aparentemente intactos após longo tempo de incubação em líquido ruminal (WILSON et al., 1991; BRITO et al., 1999). As variações encontradas para digestão de um

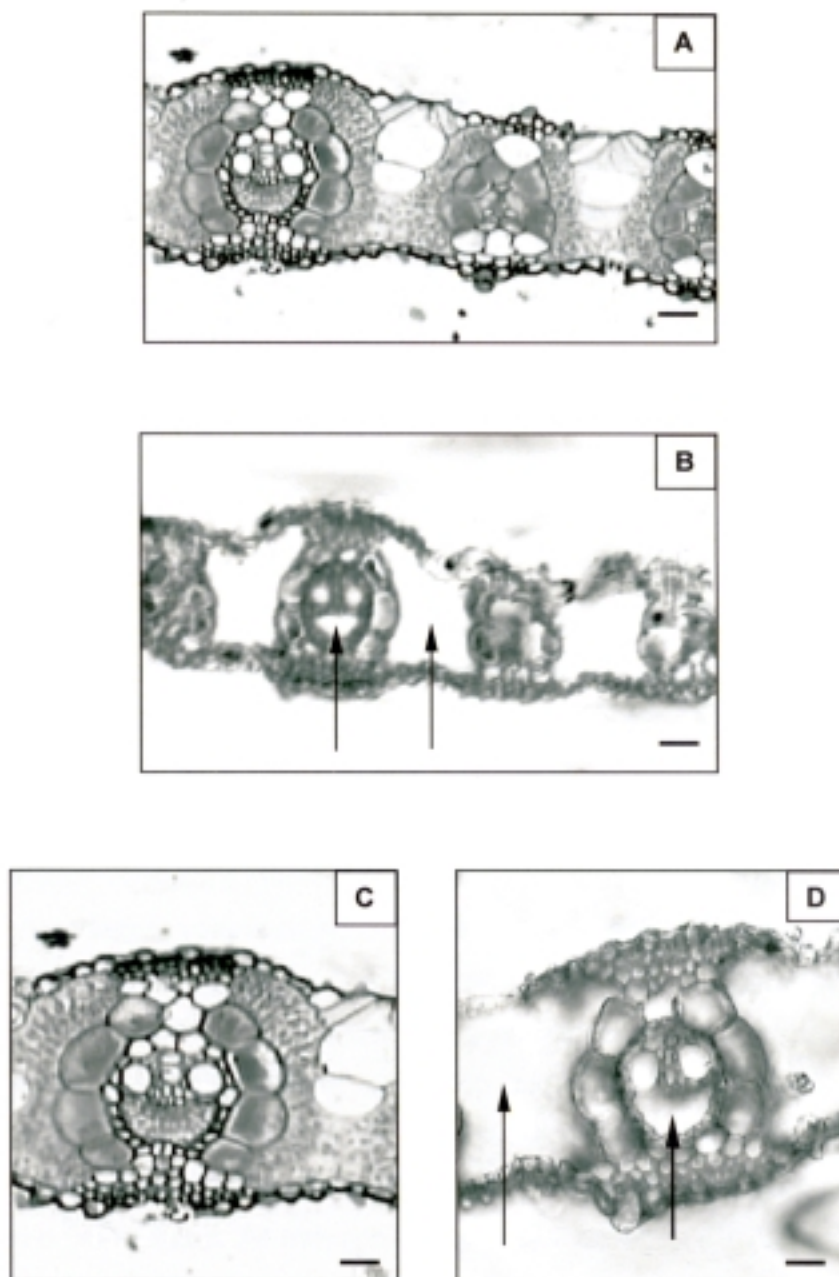


Figura 6 – Digestão de tecidos em seções transversais de lâminas foliares recém-expandidas de capim-tifton 85. (A) e (C) não-incubadas e (B) e (D) incubadas por 46 h. —→ região digerida. (A e B — 25 μ m e C e D — 50 μ m).

mesmo tecido são decorrentes, entre outras, da espécie, do estágio de desenvolvimento, de fatores de ambiente e da própria metodologia utilizada para avaliação da digestão.

Segundo LEMPP et al. (1997), um dos méritos da observação da seção transversal do resíduo da digestão *in vitro* é permitir verificar a importância da estrutura “girder” no destacamento dos diferentes tecidos e, conseqüentemente, a exposição dos mesmos aos microorganismos ruminais. Foi observado que esta estrutura é totalmente resistente à digestão, mesmo em lâminas recém-expandidas. Este fato evidencia a relevância desta característica em programas de melhoramento de gramíneas forrageiras.

3.4. Proporção x digestão de tecidos

Em geral, os resultados mostram que o capim-tifton 85 apresentou características anatômicas mais compatíveis com as de uma gramínea de melhor valor nutritivo. A confirmação deste fato pode ser obtida pela comparação da proporção dos tecidos agrupados, de acordo com o potencial de digestão, revelados neste estudo (Figura 7). Foram agrupados os tecidos que apresentaram espessamento e lignificação da parede celular, associados à baixa digestibilidade (XIL, ESC e BPF, na lâmina foliar, e XIL, ESC e EPI, no colmo), e aqueles com parede delgada e não-lignificada, altamente digestíveis (MES e FLO, na lâmina, e PAR e FLO, no colmo). As células da EPI, na lâmina foliar, foram consideradas como de digestão lenta e parcial. Em capim-tifton 85, as mais baixas proporções de tecidos pobremente digeridos na lâmina foliar e no colmo, associadas às elevadas proporções de MES e PAR, refletiram em maiores área digeridas, mesmo em lâminas e colmos em estágio de desenvolvimento mais avançado. Por outro lado, as elevadas proporções de XIL, BPF e ESC, em capim-gordura, indicam que esta espécie apresenta características anatômicas mais típicas de forrageira de valor nutritivo mais baixo. O capim-braquiária, embora tenha apresentado proporção de tecidos intermediária às duas outras espécies, mostrou mais alta espessura da parede celular, independente do estágio de desenvolvimento, e

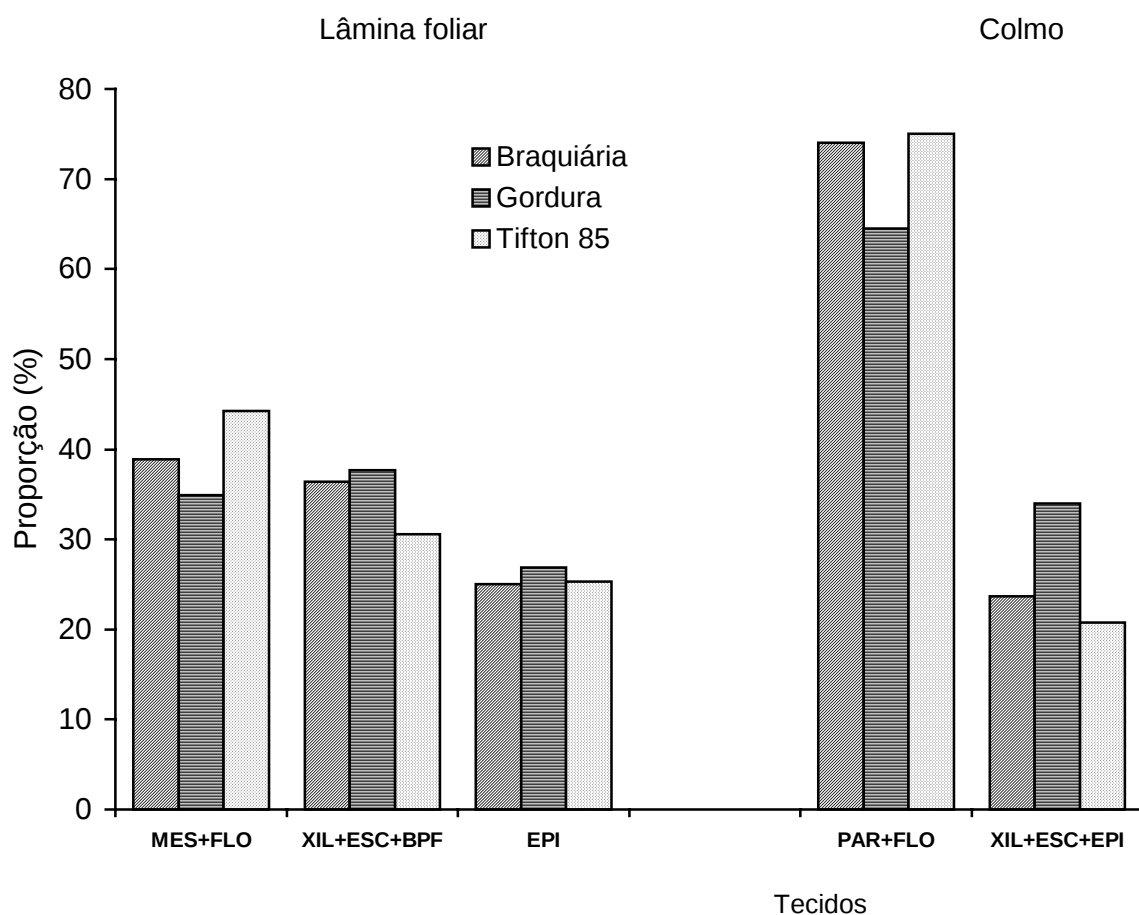


Figura 7 - Diferenças entre as três espécies quanto à proporção de tecidos agrupados de acordo com o potencial de digestão em seções transversais da lâmina foliar e do colmo. MES - mesofilo, FLO - floema e PAR - parênquima (digestíveis), EPI - epiderme (parcialmente digestível na lâmina e praticamente indigestível no colmo), XIL - xilema, ESC - esclerênquima, BPF - bainha parenquimática dos feixes (praticamente indigestíveis).

maior taxa de espessamento da parede com a idade. Tais características certamente influenciaram negativamente a digestão das seções transversais.

As diferenças na anatomia das espécies avaliadas sugerem variações na qualidade das gramíneas. A grande diversidade de espécies forrageiras utilizadas em sistemas de exploração de bovinos evidencia a possibilidade de avaliações das características anatômicas, não só para estimação do valor nutricional de forrageiras, mas também para orientação em trabalhos de melhoramento genético. WILSON (1997) sugere a possibilidade de seleção de espécies forrageiras baseada em algumas características anatômicas, tais como frequência de estrutura “girder” na lâmina foliar, proporção de ESC, espessura da parede celular, sinuosidade das paredes de células da epiderme, entre outras. Tais características anatômicas podem ser trabalhadas em programas de melhoramento, visando obtenção de gramíneas forrageiras de melhor qualidade.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

O experimento foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos da idade, do nível de inserção da folha no perfilho e da estação de crescimento, no verão ou outono, sobre a proporção de tecidos, a espessura da parede celular e o potencial de digestão dos tecidos de lâminas foliares e de segmentos de colmos de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*), capim-gordura (*Melinis minutiflora*) e capim-tifton 85 (*Cynodon sp.*).

Em cada parcela, foram identificados perfilhos para acompanhamento da idade das lâminas foliares situadas nas posições inferior e superior do perfilho. Os perfilhos foram amostrados no dia da exposição da lígula das referidas folhas e 20 dias após.

Para análises anatômicas, foram determinadas as proporções relativas de epiderme, xilema, floema, bainha parenquimática dos feixes, esclerênquima, parênquima (colmo) e mesofilo (lâmina foliar). Nas lâminas foliares, foram medidas as espessuras das paredes em células do metaxilema localizadas nos feixes vasculares maiores e do esclerênquima associado. No colmo, as medições foram feitas entre dois feixes no esclerênquima, sendo a espessura da parede do metaxilema medida em um deles. Por meio de observações ao microscópio, foi estimada a digestão *in vitro* dos tecidos da lâmina e do colmo em seções transversais previamente incubadas em líquido de rúmen.

A proporção de tecidos não foi alterada pela idade ou pela estação de crescimento em lâminas foliares, sendo a espessura da parede de células do

esclerênquima a única característica modificada pela idade na lâmina. Lâminas do nível de inserção superior apresentaram mais elevadas proporções de esclerênquima, bainha parenquimática dos feixes e xilema e células do esclerênquima e do metaxilema com paredes mais espessas (2,01 e 1,41 μm , respectivamente), enquanto as lâminas do nível de inserção inferior se destacaram por apresentar mais elevada proporção de mesofilo e paredes celulares mais delgadas (1,30 e 1,06 μm para o esclerênquima e o metaxilema, respectivamente) .

Enquanto a proporção de parênquima decresceu com a idade do colmo, a área relativa de esclerênquima e as espessuras das paredes celulares variaram diretamente com esta característica e foram maiores, em geral, no verão. As espessuras das paredes de células do esclerênquima, em colmos em estágio avançado de desenvolvimento e amostrados no verão, foram, em média, de 3,74; 2,72; e 2,08 μm , respectivamente, em capim-braquiária, capim-tifton 85 e capim-gordura.

Em geral, lâminas e segmentos de colmos jovens apresentaram maiores áreas digeridas. Permaneceram intactos os tecidos com células de parede espessada e lignificada (bainha parenquimática dos feixes, esclerênquima, xilema e epiderme do colmo), enquanto aqueles com células de parede delgada, normalmente não-lignificada, desapareceram completamente (mesofilo, floema e parênquima). O avanço na idade reduziu a digestão do mesofilo, em lâminas de capim-braquiária e capim-gordura, e do parênquima em colmos, principalmente de capim-gordura. A epiderme na lâmina foliar foi parcialmente digerida, independente da idade. Embora aparentemente intactas, células esclerenquimáticas do colmo sofreram redução da espessura da parede com a incubação em líquido ruminal. A percentagem de redução variou de 7 a 37% e a taxa de redução da espessura de 0,007 a 0,018 $\mu\text{m}/\text{h}$.

Os resultados obtidos permitiram as seguintes conclusões:

- A proporção de tecidos na lâmina foliar não variou após sua completa expansão, mas a anatomia do colmo alterou-se em função de sua idade.

- Lâminas foliares de mais alto nível de inserção apresentaram maior percentagem de tecidos de sustentação e células com paredes mais espessas que lâminas da base do perfilho.
- Segmentos de colmos apresentaram maior percentagem de esclerênquima e paredes celulares mais espessas no verão.
- As células do mesofilo, do parênquima e do floema foram as únicas a sofrerem completa digestão *in vitro*.
- Apesar da manutenção da integridade do tecido, as células do esclerênquima do colmo apresentaram variada redução na espessura da parede secundária, o que evidencia a parcial digestão destas.

CAPÍTULO 3

CORRELAÇÕES ENTRE COMPONENTES ANATÔMICOS, QUÍMICOS E DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* DA MATÉRIA SECA

1. INTRODUÇÃO

A maioria das gramíneas tropicais possui estrutura foliar conhecida como anatomia tipo Kranz, substancialmente diferente da estrutura anatômica das gramíneas temperadas. A anatomia da folha está relacionada à via fotossintética C₄ ou C₃, que caracteriza as gramíneas tropicais e temperadas, respectivamente (LAETSCH, 1974). As principais características que distinguem tais gramíneas são as mais altas proporções de bainha parenquimática dos feixes e tecido vascular lignificado, em gramíneas C₄, e a maior quantidade de células do mesofilo entre os feixes vasculares, em gramíneas C₃. Estas diferenças na proporção de tecidos podem explicar, em parte, as diferenças de valor nutritivo entre gramíneas tropicais e temperadas (WILSON et al., 1983). Dentro do mesmo grupo fotossintético, diferenças anatômicas entre espécies e/ou cultivares também podem refletir diferenças no valor nutritivo da forragem (WILSON et al., 1983; QUEIROZ et al, 2000b).

Alguns autores têm estabelecido a relação entre anatomia, composição química e digestibilidade de gramíneas forrageiras. Correlações altamente significativas entre a proporção de tecidos individuais, ou em combinação, e as entidades nutricionais têm sido observadas (WILKINS, 1972; WILSON et al., 1989a; e QUEIROZ, 2000b). Em geral, tecidos rápida e totalmente digeridos, como o mesofilo, apresentam correlações positivas com os coeficientes de digestibilidade e os teores de proteína bruta e negativas com os teores de parede celular. Por outro lado, tecidos resistentes à digestão, como o xilema e o esclerênquima, ou de digestão lenta e parcial, como a bainha parenquimática dos feixes, correlacionam-se positivamente com os teores de parede celular e de lignina e negativamente com a digestibilidade.

A estrutura anatômica básica das gramíneas tropicais apresenta limitação adicional à digestibilidade, devido aos elevados teores de parede celular, associados à anatomia tipo Kranz (WILSON et al., 1983). Embora nutricionalmente importante, por apresentar frações potencialmente digestíveis, a parede celular, quando em elevadas concentrações na forragem, resulta em comprometimento da digestibilidade e do consumo pelos ruminantes (MINSON, 1990). De acordo com WILSON (1994), a digestibilidade da parede celular ou da fração fibrosa em forrageiras pode variar de 30 a 60% e, dependendo do tipo de célula, de 0 a 100%. Em geral, os constituintes fibrosos (fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e lignina) são correlacionados negativamente com a digestibilidade (WILSON et al., 1983, WILSON e HATTERSLEY, 1989; WEISS, 1994; e QUEIROZ et al., 2000a).

Correlação dos teores de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido com a digestibilidade parece estar condicionada ao grau de associação entre os teores de lignina e fibra. Se esta associação é baixa, o conteúdo de fibra da forrageira não será bom indicador da digestibilidade (VAN SOEST, 1994; QUEIROZ et al., 2000a).

Os teores de fibra em detergente ácido são freqüentemente utilizados para estimativas da digestibilidade (WEISS, 1994). Os coeficientes de correlação entre as concentrações de fibra em detergente ácido e a digestibilidade da matéria seca variam entre -0,5 e -0,95 (MINSON, 1982). Leguminosas tendem a apresentar teor de lignina mais elevado que as gramíneas de mesma digestibilidade. Este fato contribui para o baixo

coeficiente de determinação das equações de regressão baseadas nos valores de fibra em detergente ácido, usadas para predizer a digestibilidade de populações mistas de gramíneas e leguminosas (ABRAMS, 1988). Por essa razão, correlações mais altas são obtidas quando gramíneas e leguminosas são avaliadas separadamente e mais altas ainda em estudos envolvendo poucas espécies de gramíneas.

A lignina é o principal componente químico a limitar a digestibilidade de forrageiras (AKIN e CHESSON, 1989; WILSON et al., 1991; JUNG E DEETZ, 1993; e JUNG E ALLEN, 1995). Altas e negativas correlações têm sido obtidas entre os teores de lignina, determinados por diferentes metodologias, e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (JUNG et al., 1997; QUEIROZ et al., 2000a). Entretanto, a variação na digestibilidade não pode ser explicada somente pela concentração de lignina. JUNG e ALLEN (1995) relataram que a composição da lignina pode diferir entre espécies, cultivares, frações da planta e tecidos, o que modifica o impacto da lignificação sobre a digestibilidade, e explica a ocorrência de baixa correlação entre a concentração de lignina e a digestibilidade da parede celular (HALIM et al., 1989; JUNG e CASLER, 1991; e JUNG e VOGEL, 1992), ou ainda a correlação positiva da lignina com a digestibilidade (JUNG et al., 1994). Segundo JUNG e ALLEN (1995), altas correlações negativas têm sido consistentemente encontradas, quando a análise inclui várias espécies de gramíneas, em diferentes estádios de maturidade, e, freqüentemente, envolve toda a planta. Por outro lado, os resultados têm sido inconsistentes em avaliações limitadas a uma espécie forrageira em estádios de maturidade semelhantes, ou quando as análises envolvem, conjuntamente, gramíneas e leguminosas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o grau de correlação entre componentes químicos e anatômicos e entre estes componentes e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca de lâminas foliares e colmos, em três gramíneas forrageiras.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Lâminas foliares e segmentos de colmo das gramíneas forrageiras capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*), capim-gordura (*Melinis minutiflora*) e capim-tifton 85 (*Cynodon sp*) foram avaliados quanto aos efeitos da idade, do nível de inserção no perfilho (só para lâmina foliar) e da estação de crescimento sobre características anatômicas e nutricionais. Descrição da condução do experimento no campo, bem como da retirada das amostras, está detalhada no capítulo 1.

Para as avaliações anatômicas, segmentos da lâmina e do colmo foram fixados em FAA, desidratados e incluídos em "paraplast", para seccionamento em micrótomo a 10 µm e posterior montagem em lâminas permanentes. A mensuração da contribuição de cada tecido para a área total da seção foi feita com uso do software IMAGE-PRO, acoplado a um microscópio binocular. Foram determinadas as áreas de mesofilo, epiderme, bainha parenquimática dos feixes, esclerênquima, xilema, além do parênquima no colmo. Foram medidas as espessuras das paredes das células esclerenquimáticas associadas aos feixes vasculares maiores na lâmina foliar e aquelas do anel esclerenquimático no colmo. As paredes das células dos vasos de metaxilema foram medidas nos feixes vasculares maiores.

A avaliação da composição química consistiu na determinação dos teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina.

Correlações lineares entre todas as características foram estimadas para a lâmina foliar (48 observações), o colmo (24 observações) e o agrupamento dos dados das duas frações (72 observações).

Os coeficientes de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foram estimados segundo TILLEY e TERRY (1963).

Foram obtidas, também, correlações dos componentes anatômicos e químicos com a DIVMS para a lâmina (16 observações), o colmo (oito observações) e as duas frações (24 observações), considerando cada espécie separadamente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Coeficientes de correlação entre componentes químicos e anatômicos da lâmina foliar, do colmo e da lâmina + colmo, considerando o agrupamento dos dados das três espécies, são apresentados nos Quadros 1, 2, 3 e 4.

A espessura da parede das células do esclerênquima e do metaxilema na lâmina foliar apresentou associações altamente significativas com todos os componentes químicos, com exceção da hemicelulose, mostrando correlação negativa com os teores de PB e positiva com os componentes da fração fibrosa (FDN, FDA e lignina) (Quadro 1).

O mesofilo, composto por células de parede delgada e, normalmente, não-lignificada, apresentou correlação positiva com os teores de PB e negativa com os de FDA. Comportamento inverso foi verificado para a proporção de xilema.

As proporções de esclerênquima e epiderme mostraram estreita correlação ($P < 0,05$) apenas com os teores de FDN. A lignina foi, em geral, o componente químico de mais baixa correlação com as proporções de tecidos. Assim, com exceção da associação significativa dos teores de lignina com a espessura da parede celular, todas as demais correlações da lignina com os componentes anatômicos foram não-significativas. Por outro lado, a lignina se correlacionou fortemente com todos os componentes químicos, à exceção da hemicelulose. As correlações foram positivas com os teores de FDN, FDA e celulose e negativa com os de PB.

Quadro 1- Coeficientes de correlação entre componentes químicos e anatômicos em lâminas foliares de gramíneas forrageiras (n= 48 observações)

	MES	XIL	EPI	ESC	BPF	ESPSC	ESPME	PB	FDN	FDA	CEL	HEM	LIG
MES ¹	-	-0,65***	0,18 ^{ns}	0,41**	-0,85***	-0,49***	-0,23*	0,33**	0,23 ^{ns}	-0,35**	-0,34**	0,48**	-0,03 ^{ns}
XIL		-	-0,06 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,36**	0,56***	0,28*	-0,51***	0,09 ^{ns}	0,31*	0,42**	-0,15 ^{ns}	-0,11 ^{ns}
EPI			-	0,56***	-0,40**	0,10 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	0,34**	0,03 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,33**	-0,16 ^{ns}
ESC				-	-0,64***	0,23 ^{ns}	0,27*	-0,17 ^{ns}	0,65***	-0,05 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,66***	-0,18 ^{ns}
BPF					-	0,35**	0,24*	-0,16 ^{ns}	-0,37**	0,29*	0,19 ^{ns}	-0,58***	0,17 ^{ns}
ESPSC						-	0,79***	-0,68***	0,51***	0,51***	0,32**	0,16 ^{ns}	0,34**
ESPME							-	-0,50***	0,47***	0,49***	0,31**	0,13 ^{ns}	0,31**
PB								-	-0,56***	-0,73***	-0,62***	-0,09 ^{ns}	-0,57***
FDN									-	0,36**	0,29*	0,77***	0,42**
FDA										-	0,88***	-0,29*	0,49***
CEL											-	-0,29*	0,24*
HEM												-	0,14 ^{ns}
LIG													-

¹- MES- mesofilo, XIL- xilema, EPI- epiderme, ESC- esclerênquima, BPF- bainha parenquimática dos feixes, ESPSC- espessura da parede em células do esclerênquima, ESPME- espessura da parede em células do metaxilema, PB- proteína bruta, FDN- fibra em detergente neutro, FDA- fibra em detergente ácido, CEL- celulose, HEM- hemicelulose e LIG- lignina

* (P<0,05), ** (P<0,01), *** (P<0,001), ^{ns} (não-significativo).

O número de correlações significativas no colmo (Quadro 2) foi, em geral, menor que na lâmina foliar, embora as correlações significativas tenham apresentado valores mais elevados. A exemplo do que aconteceu na lâmina, a espessura da parede celular do esclerênquima e do metaxilema foi a característica anatômica que melhor se correlacionou com os componentes químicos. Além desses, a proporção de esclerênquima também apresentou correlações significativas com os teores de PB, FDN, FDA, celulose e lignina. O parênquima e a epiderme apresentaram correlações negativas com os teores de FDA ($P < 0,01$) e FDN ($P < 0,05$), respectivamente, enquanto o xilema se associou positivamente com a FDA ($P < 0,05$).

A celulose e a hemicelulose foram os componentes de mais baixas correlações com os componentes químicos e anatômicos, apresentando menos de 50% das correlações significativas.

Repetindo relato de JUNG e ALLEN (1995), acentuada melhoria das correlações entre as características anatômicas e químicas foi observada com o agrupamento dos dados de colmo e lâmina foliar (Quadro 3). Neste estudo, a associação dos dados da lâmina foliar e do colmo aumentou o número de observações e propiciou maiores diferenças entre valores extremos observados para as características anatômicas e químicas. As proporções de xilema e esclerênquima, bem como as espessuras das paredes celulares, se correlacionaram ($P < 0,001$) negativamente com os teores de PB e positivamente com os de FDN, FDA e lignina. Por outro lado, a epiderme mostrou comportamento inverso.

Todas as características químicas estudadas (PB, FDN, FDA e lignina) apresentaram correlações altamente significativas com a digestibilidade, independente da fração (Quadro 4). Entretanto, apenas a espessura da parede das células do esclerênquima e do metaxilema, entre os componentes anatômicos, mostrou correlação ($P < 0,001$) com a digestibilidade, independente da fração considerada. Na lâmina foliar, o mesofilo apresentou associação positiva e a bainha parenquimática dos feixes, negativa, e no colmo, o xilema e o esclerênquima correlacionaram-se negativamente com a digestibilidade. Embora freqüentemente se correlacione negativamente com a digestibilidade

Quadro 2- Coeficientes de correlação entre componentes anatômicos e químicos em colmos de gramíneas forrageiras (n= 24 observações)

	EPI	PAR	XIL	ESC	ESPSC	ESPME	PB	FDN	FDA	CEL	HEM	LIG
EPI ¹	-	-0,10 ^{ns}	0,23 ^{ns}	-0,22 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,22 ^{ns}	-0,41*	-0,20 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	-0,25 ^{ns}
PAR		-	-0,83***	-0,82***	-0,08 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,50**	-0,43*	0,51**	-0,30 ^{ns}
XIL			-	0,48**	-0,21 ^{ns}	-0,19 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-0,29 ^{ns}	0,40*	0,56**	-0,68***	-0,05 ^{ns}
ESC				-	0,44*	0,36*	-0,50**	0,51**	0,66***	0,37*	-0,28 ^{ns}	0,65***
ESPSC					-	0,74***	-0,65***	0,75***	0,52**	0,04 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,91***
ESPME						-	-0,18 ^{ns}	0,44*	0,35*	-0,06 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,71***
PB							-	-0,85***	-0,57**	-0,25 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,69***
FDN								-	0,48**	0,06 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,80***
FDA									-	0,84***	-0,68***	0,62***
CEL										-	-0,86***	0,12 ^{ns}
HEM											-	-0,01 ^{ns}
LIG												-

¹ EPI- epiderme, PAR- parênquima, XIL- xilema, ESC- esclerênquima, ESPSC- espessura da parede de células do esclerênquima, ESPME- espessura da parede de células do metaxilema, PB- proteína bruta, FDN- fibra em detergente neutro, FDA- fibra em detergente ácido, CEL- celulose, HEM- hemicelulose e LIG- lignina.

* (P<0,05), ** (P<0,01), *** (P<0,001), ^{ns} (não-significativo).

Quadro 3- Coeficientes de correlação entre componentes químicos e anatômicos em lâminas foliares e em colmos de gramíneas forrageiras (n= 72 observações)

	XIL	EPI	ESC	ESPSC	ESPME	PB	FDN	FDA	CEL	HEM	LIG
XIL ¹	-	-0,85***	0,86***	-0,01 ^{ns}	0,64***	-0,74***	0,70***	0,84***	0,85***	-0,17 ^{ns}	0,63***
EPI		-	-0,83***	-0,06 ^{ns}	-0,75***	0,81***	-0,82***	-0,84***	-0,80***	-0,03 ^{ns}	-0,75***
ESC			-	0,26*	0,75***	-0,78***	0,85***	0,87***	0,79***	0,05 ^{ns}	0,83***
ESPSC				-	0,51***	-0,34**	0,35**	0,32**	0,12 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,59***
ESPME					-	-0,77***	0,80***	0,79***	0,66***	0,09 ^{ns}	0,81***
PB						-	-0,89***	-0,87***	-0,81***	-0,10 ^{ns}	-0,78***
FDN							-	0,84***	0,75***	0,36**	0,83***
FDA								-	0,95***	-0,19 ^{ns}	0,84***
CEL									-	-0,27**	0,66***
HEM										-	0,07 ^{ns}
LIG											-

¹ XIL- xilema, EPI- epiderme, ESC- esclerênquima, ESPSC- espessura da parede em células do esclerênquima, ESPME- espessura da parede em células do metaxilema, PB- proteína bruta, FDN- fibra em detergente neutro, FDA- fibra em detergente ácido, CEL- celulose, HEM- hemicelulose e LIG- lignina.

* (P<0,05), ** (P<0,01), *** (P<0,001), ^{ns} (não-significativo).

Quadro 4- Coeficientes de correlação entre a DIVMS e os componentes químicos e anatômicos em lâminas foliares e em colmos de gramíneas forrageiras

Variáveis	Frações do perfilho		
	Lâmina foliar	Colmo	Lâmina + colmo
Número de observações	48	24	72
Mesofilo	0,43*	-	-
Parênquima	-	-0,02 ^{ns}	-
Xilema	0,23 ^{ns}	-0,35*	-0,52**
Bainha parenquimática dos feixes	-0,34*	-	-
Esclerênquima	0,04 ^{ns}	-0,24 ^{ns}	-0,53**
Espessura da parede esclerênquima	-0,68**	-0,76**	0,45**
Espessura da parede metaxilema	-0,58**	-0,54**	-0,72**
Proteína bruta	0,70**	0,65**	0,81**
Fibra em detergente neutro	-0,36*	-0,66**	-0,68**
Fibra em detergente ácido	-0,68**	-0,58**	-0,73**
Lignina	-0,59**	-0,70**	-0,67**

* (P<0,01), ** (P<0,001), ^{ns} (não-significativo).

(QUEIROZ et al., 2000), a proporção de esclerênquima apresentou correlação significativa somente quando se associaram os dados da lâmina e do colmo. Sua contribuição para a área de tecido é pequena, mas a elevada espessura de sua parede celular tem forte impacto negativo na qualidade da forragem (WILSON, 1994).

Equações de regressão entre a DIVMS e os teores de FDN, FDA e lignina e a espessura da parede em células do esclerênquima, característica anatômica mais consistentemente correlacionada com a DIVMS, são apresentadas na Figura 1. O coeficiente de regressão linear foi mais elevado para as características da lâmina foliar que do colmo. Assim, foram encontrados os coeficientes de $-0,55$ e $-0,45\%$ de digestibilidade/unidade percentual de FDN, $-1,36$ e $-0,30\%$ de digestibilidade/unidade percentual de FDA, $-4,60$ e $-0,68\%$ de digestibilidade/unidade percentual de lignina e $-10,30$ e $-2,64\%$ de digestibilidade/ μm da parede em células do esclerênquima, para a lâmina e o colmo, respectivamente. Estes valores indicam que a DIVMS da lâmina foi mais prejudicada que a do colmo para o mesmo incremento nos teores de FDN, FDA e lignina ou na espessura da parede. Em geral, colmos jovens apresentam elevada digestibilidade, que, com a maturidade decresce mais intensamente que em lâminas foliares (NELSON e MOSER, 1994). A discordância entre os resultados encontrados neste estudo e os relatados na literatura pode ser atribuída, provavelmente, ao fato de que os menores teores de FDN (acima de 70%) e FDA (acima de 45%) encontrados no colmo parecem já suficientemente elevados para limitarem a DIVMS. Portanto, a digestibilidade dos colmos sofreu pequena queda com a maturidade. Por outro lado, a DIVMS de lâminas foliares, elevada no momento da exposição da lígula, decresceu acentuadamente em resposta a incrementos nas concentrações de fibra.

Além do estudo de correlações com os dados agrupados das três espécies, relatado anteriormente, foram verificadas as correlações entre a DIVMS e os componentes químicos e anatômicos separadamente para cada espécie (Quadro 5). Nota-se a mesma tendência de resultados obtidos com o agrupamento das três espécies, em que as proporções de mesofilo e os teores de PB se correlacionaram positivamente com a digestibilidade, enquanto todos

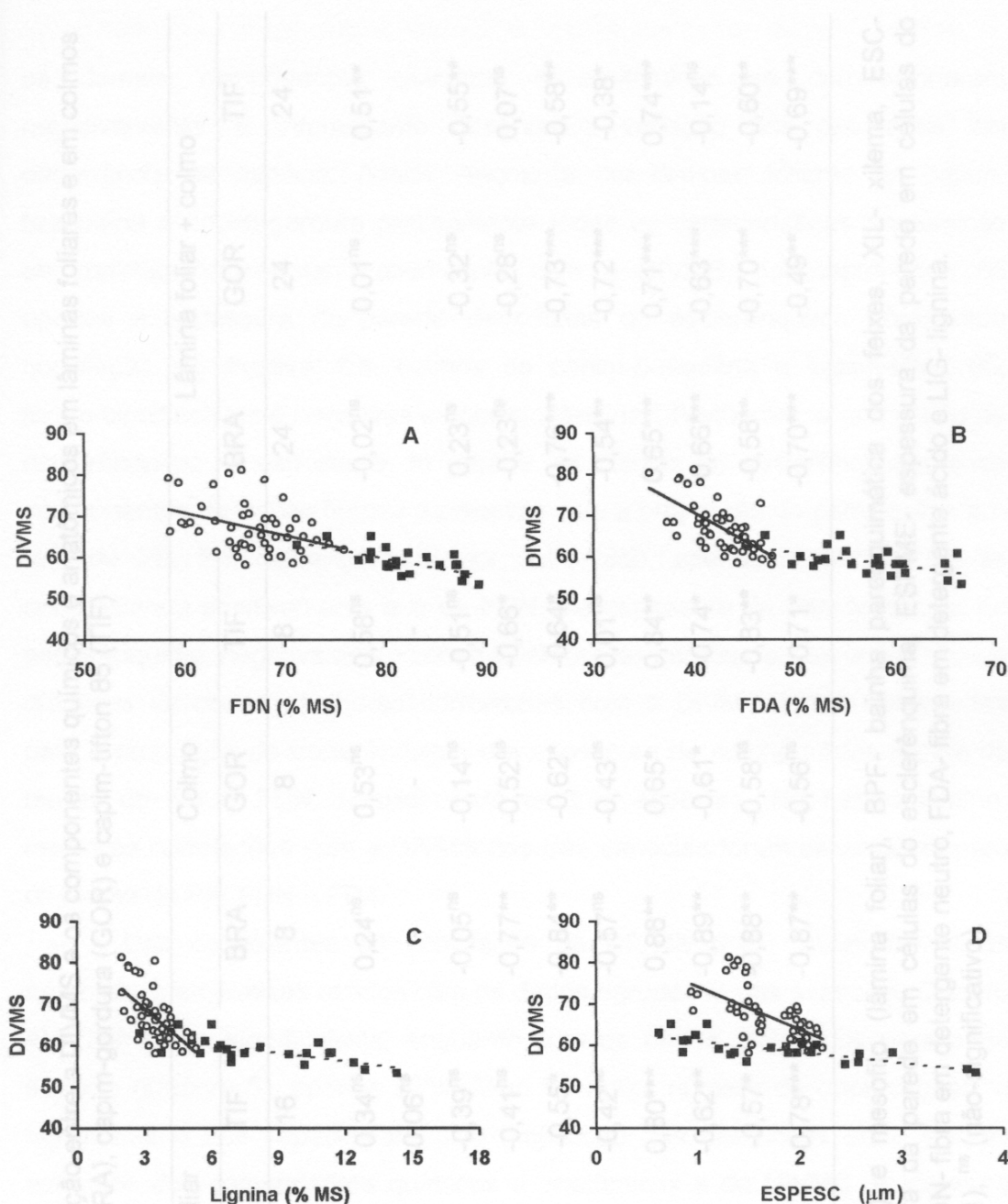


Figura 1- Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) de lâminas foliares (—○—) e colmos (—■—), em função dos teores de (A) fibra em detergente neutro (FDN), $\hat{Y}_{\text{lâmina}} = 103,6 - 0,55 \% \text{FDN}$, $R^2 = 0,24$ e $\hat{Y}_{\text{colmo}} = 95,7 - 0,45 \% \text{FDN}$, $R^2 = 0,44$; (B) fibra em detergente ácido (FDA), $\hat{Y}_{\text{lâmina}} = 125,1 - 1,36 \% \text{FDA}$, $R^2 = 0,42$ e $\hat{Y}_{\text{colmo}} = 76,2 - 0,30 \% \text{FDA}$, $R^2 = 0,34$ e (C) lignina, $\hat{Y}_{\text{lâmina}} = 82,9 - 4,6 \% \text{lignina}$, $R^2 = 0,38$ e $\hat{Y}_{\text{colmo}} = 64,4 - 0,68 \% \text{lignina}$, $R^2 = 0,50$; e (D) da espessura da parede em células do esclerênquima (ESPESC), $\hat{Y}_{\text{lâmina}} = 84,4 - 10,3 \text{ ESPESC}$, $R^2 = 0,35$ e $\hat{Y}_{\text{colmo}} = 63,7 - 2,64 \text{ ESPESC}$, $R^2 = 0,58$.

Quadro 5 – Coeficientes de correlação entre a DIVMS e os componentes químicos e anatômicos em lâminas foliares e em colmos de capim-braquiária (BRA), capim-gordura (GOR) e capim-tifton 85 (TIF)

Variáveis	Lâmina foliar			Colmo			Lâmina foliar + colmo		
	BRA	GOR	TIF	BRA	GOR	TIF	BRA	GOR	TIF
Número de observações	16	16	16	8	8	8	24	24	24
PAR/MES ¹	0,62**	0,61**	0,34 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,53 ^{ns}	0,58 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,51**
BPF	-0,44*	-0,42 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-	-	-			
XIL	-0,65**	-0,55*	-0,39 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	-0,51 ^{ns}	0,23 ^{ns}	-0,32 ^{ns}	-0,55**
ESC	-0,44*	-0,43*	-0,41 ^{ns}	-0,77**	-0,52 ^{ns}	-0,66*	-0,23 ^{ns}	-0,28 ^{ns}	0,07 ^{ns}
ESPSC	-0,74***	-0,71**	-0,55*	-0,84**	-0,62*	-0,64*	-0,76***	-0,73***	-0,58**
ESPME	-0,68**	-0,68**	-0,42 ^{ns}	-0,57 ^{ns}	-0,43 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,54**	-0,72***	-0,38*
PB	0,76***	0,60**	0,80***	0,88**	0,65*	0,84**	0,65***	0,71***	0,74***
FDN	-0,65**	-0,58**	-0,62**	-0,89**	-0,61*	-0,74*	-0,66***	-0,63***	-0,14 ^{ns}
FDA	-0,74***	-0,65**	-0,57*	-0,88**	-0,58 ^{ns}	-0,83**	-0,58**	-0,70***	-0,60**
LIG	-0,60**	-0,35 ^{ns}	-0,78***	-0,87**	-0,56 ^{ns}	-0,71*	-0,70***	-0,49**	-0,69***

¹ PAR/MES- parênquima (colmo) e mesofilo (lâmina foliar), BPF- bainha parenquimática dos feixes, XIL- xilema, ESC- esclerênquima, ESPSC- espessura da parede em células do esclerênquima, ESPME- espessura da parede em células do metaxilema, PB- proteína bruta, FDN- fibra em detergente neutro, FDA- fibra em detergente ácido e LIG- lignina.

*(P<0,05), ** (P<0,01), *** (P<0,001), ^{ns} (não-significativo).

os demais componentes químicos e anatômicos se correlacionaram negativamente. É interessante observar a variação dos resultados em decorrência da espécie. Assim, enquanto em lâminas foliares de capim-braquiária e capim-gordura praticamente todas as características anatômicas se correlacionaram significativamente com a DIVMS, em capim-tifton 85 apenas a espessura da parede de células do esclerênquima apresentou correlação significativa. Em colmos de capim-braquiária e capim-tifton 85, foram significativas e negativas as correlações da DIVMS com: a proporção de esclerênquima, a espessura da parede de células do esclerênquima, e os componentes da fração fibrosa e positivas com a proporção de parênquima e o teor de PB. Em capim-gordura, por outro lado, apenas o teor de PB se correlacionou positivamente e o de FDN e a espessura da parede celular no esclerênquima, negativamente com a DIVMS. Das características anatômicas e químicas do colmo, melhores correlações com a DIVMS foram observadas para a proporção de esclerênquima e a espessura de suas paredes e para os teores de PB e FDN, considerando as três espécies. Na fração lâmina, melhores correlações com a DIVMS das três espécies foram observadas para os teores de PB, FDN e FDA.

Dos coeficientes de correlação da DIVMS com as características anatômicas e químicas obtidos com os dados agrupados das espécies (Quadro 4), 73% foram significativos, enquanto com os dados analisados para cada espécie (Quadro 5), apenas 52%. Além do maior número de observações, o agrupamento das espécies permitiu ampliação das diferenças entre valores extremos dos componentes químicos e anatômicos e da DIVMS. A literatura revela, por exemplo, que fortes correlações negativas entre o teor de lignina e a DIVMS são consistentemente obtidas quando a avaliação inclui várias espécies de gramíneas (JUNG e ALLEN, 1995).

Em geral, melhores correlações da DIVMS foram obtidas com os componentes químicos. Com os dados do Quadro 5, é possível calcular maior número de correlações significativas da DIVMS com os componentes químicos que aquelas entre a DIVMS e os componentes anatômicos na lâmina foliar, no colmo e no agrupamento dos dados das duas frações. Também, QUEIROZ (1997) concluiu que os componentes químicos de três gramíneas forrageiras

propiciaram melhores correlações com a DIVMS que componentes anatômicos. Ainda assim, as elevadas correlações da DIVMS com as proporções de mesofilo e bainha parenquimática dos feixes ($P < 0,01$), na lâmina foliar e de xilema e esclerênquima ($P < 0,001$) no agrupamento de todas as espécies e frações, e, principalmente, com a espessura da parede celular, independente da fração ou da espécie, revelam o potencial de tais características anatômicas como indicadoras da digestibilidade.

Os resultados confirmam que os tecidos pobremente digestíveis, como o xilema e o esclerênquima, se associam positivamente com a fração fibrosa da forragem e negativamente com os teores protéicos e com a digestibilidade, principalmente quando se agruparam os dados da lâmina e do colmo. Evidentemente, características químicas e físicas da parede celular destes tecidos explicam tais resultados. A lignina tem sido reconhecida como o principal componente químico limitante da digestibilidade da forragem (JUNG e DEETZ, 1993; HATIFIELD et al., 1999), o que foi evidenciado neste trabalho. A baixa digestibilidade das forrageiras tropicais pode decorrer, ainda, de problemas físicos, como a elevada espessura da parede celular, podendo ser fator primário para limitação da digestão da parede celular (WILSON e MERTENS, 1995). Este fato foi realçado neste estudo com a elevada associação negativa entre a espessura da parede celular e a digestibilidade.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Lâminas foliares e segmentos de colmo das gramíneas forrageiras capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*), capim-gordura (*Melinis minutiflora*) e capim-tifton 85 (*Cynodon sp*) foram amostradas em dois níveis de inserção no perfilho (inferior e superior), em duas idades (momento da exposição da lígula e 20 dias após) e em duas estações de crescimento (verão e outono).

Amostras dos segmentos de colmos e lâminas foliares foram submetidos à determinação de sua composição química, composição anatômica e digestibilidade *in vitro*.

Após obtenção dos dados, foram estabelecidas as correlações entre os componentes químicos e anatômicos e entre estes e a DIVMS, na lâmina, no colmo e no agrupamento dos dados das duas frações, considerando todas as espécies, e entre os componentes químicos e anatômicos e a DIVMS, considerando cada espécie separadamente.

A espessura da parede celular foi a característica anatômica a se correlacionar mais fortemente com todos os componentes químicos, independente da fração considerada. Suas correlações foram positivas com os teores de fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e lignina e negativa com os de proteína bruta. A proporção de mesofilo se correlacionou positivamente com os teores de proteína bruta e negativamente com os de fibra em detergente ácido, enquanto o esclerênquima apresentou correlação positiva com os teores de fibra em detergente neutro.

A lignina se correlacionou significativamente com as proporções de tecidos somente quando se agruparam os dados da lâmina e do colmo, que, em geral, mostraram as melhores correlações. Os componentes químicos se correlacionaram fortemente entre si e com a DIVMS, enquanto, das características anatômicas, somente a espessura da parede celular mostrou correlação significativa com a DIVMS, independente da fração. O mesofilo se correlacionou positivamente e o xilema, negativamente com a DIVMS, respectivamente, na lâmina e no colmo.

Coeficientes de regressão linear entre a DIVMS e os teores de fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e lignina e a espessura da parede de células do esclerênquima foram mais altos para a lâmina foliar que para o colmo.

A análise de correlação dos valores de cada espécie separadamente mostrou tendências semelhantes às do agrupamento das espécies, apresentando correlações negativas da DIVMS com os componentes da fração fibrosa e com os tecidos de sustentação e a espessura da parede celular e positiva com a PB.

Os resultados obtidos permitiram as seguintes conclusões:

- A espessura da parede de células do esclerênquima e do metaxilema foi a característica anatômica que mais fortemente se correlacionou com os componentes químicos e a digestibilidade da forragem.
- Os componentes químicos proporcionaram correlações significativas com a DIVMS, independente da fração considerada.
- Estimativas das proporções de mesofilo, xilema e esclerênquima, juntamente com avaliações da espessura da parede celular, podem ser combinadas com a composição química para melhorar a estimativa de valor nutritivo.

3. RESUMO E CONCLUSÕES

O experimento foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos da idade, do nível de inserção da folha no perfilho e da estação de crescimento, verão ou outono, sobre as características anatômicas, químicas e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca, bem como estabelecer as correlações entre estas características, em lâminas foliares e segmentos de colmo de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*), capim-gordura (*Melinis minutiflora*) e capim-tifton 85 (*Cynodon sp.*).

Em cada parcela, foram identificados perfilhos para acompanhamento da idade das lâminas foliares situadas nas posições inferior e superior do perfilho. Os perfilhos foram amostrados no dia da exposição da lígula das referidas folhas e 20 dias após. O segmento de colmo amostrado foi o situado imediatamente abaixo da folha de nível de inserção superior. No crescimento de verão, as amostragens foram realizadas nos meses de dezembro-janeiro e no outono, nos meses de maio-junho.

Para análises químicas, determinaram-se os teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), celulose, hemicelulose e lignina. Para análises anatômicas, foram medidas as proporções relativas de epiderme, xilema, floema, bainha parenquimática dos feixes, esclerênquima, parênquima (colmo) e mesofilo (lâmina foliar), bem como a espessura das paredes de células do metaxilema e do esclerênquima. Por meio de observações ao microscópio, foi estimada a digestão *in vitro* dos

tecidos, em seções transversais previamente incubadas em líquido de rúmen. Foram estabelecidas as correlações entre os componentes químicos e anatômicos e entre estes e a DIVMS, da lâmina, do colmo e dos dados das duas frações agrupados, considerando todas as espécies, e entre os componentes químicos e anatômicos e a DIVMS, considerando cada espécie separadamente.

A proporção de tecidos em lâminas foliares não se alterou em função da idade ou da estação de crescimento, sendo a espessura da parede de células do esclerênquima a única característica modificada pela idade na lâmina. Lâminas do nível de inserção superior apresentaram mais elevadas proporções de esclerênquima, bainha parenquimática dos feixes e xilema e células do esclerênquima e do metaxilema com paredes mais espessas (2,01 e 1,41 μm , respectivamente), enquanto as lâminas do nível de inserção inferior se destacaram por apresentar mais elevada proporção de mesofilo.

Enquanto a proporção de parênquima decresceu com a idade do colmo, a área relativa de esclerênquima e a espessura da parede celular variaram diretamente com esta característica e foram maiores, em geral, no verão.

Em geral, lâminas e segmentos de colmos jovens apresentaram maiores áreas digeridas de tecidos. Permaneceram intactos a bainha parenquimática dos feixes, o esclerênquima, o xilema e a epiderme do colmo, enquanto o mesofilo, o floema e o parênquima desapareceram. A epiderme na lâmina foliar foi parcialmente digerida, independente da idade. Células esclerenquimáticas do colmo sofreram redução da espessura da parede secundária com a incubação em líquido ruminal, com taxas que variaram de 0,007 a 0,018 $\mu\text{m}/\text{h}$.

Os teores médios de FDN (81,8%) do colmo foram mais elevados no verão e no estágio de desenvolvimento mais avançado. O colmo de capim-tifton 85 apresentou 8,5 unidades percentuais a menos de FDA que as outras duas gramíneas, que não diferiram entre si.

Os teores médios de PB de lâminas foliares exibiram pequenas diferenças entre as espécies e variaram inversamente com a idade da folha e o nível de inserção. Lâminas da posição superior apresentaram mais elevados teores de FDN e lignina, independente da espécie, da estação e da idade.

Os coeficientes de DIVMS decresceram a partir do momento da expansão da lâmina foliar e foram mais altos em lâminas do nível inferior e colhidas no outono. A DIVMS de lâminas recém-expandidas não variou entre as espécies, mas em lâminas com 20 dias de idade foi mais elevada em capim-tifton 85 e mais baixa em capim-braquiária. Os valores de DIVMS do colmo foram mais baixos em capim-braquiária (56,9%) e mais elevados em capim-tifton 85 (59,6%) e capim-gordura (60,5%).

A espessura da parede celular foi a característica anatômica a se correlacionar mais fortemente com todos os componentes químicos, independente da fração considerada. Suas correlações foram positivas com os teores FDN, FDA e lignina e negativas com os de PB. A proporção de mesofilo se correlacionou positivamente com os teores de PB e negativamente com os de FDA, enquanto o esclerênquima apresentou correlação positiva com os teores de FDN.

Os componentes químicos se correlacionaram fortemente entre si e com a DIVMS, enquanto, das características anatômicas, somente a espessura da parede celular mostrou correlação significativa com a DIVMS, independente da fração. O mesofilo se correlacionou positivamente e o xilema, negativamente com a DIVMS, respectivamente, na lâmina e no colmo.

Os resultados obtidos permitiram as seguintes conclusões:

- Lâminas foliares de mais alto nível de inserção apresentaram mais elevados teores de FDN, FDA e lignina, maior percentagem de tecidos de sustentação e células com paredes mais espessas, sendo menos digestíveis que lâminas da base do perfilho.
- A idade reduziu o valor nutritivo de lâminas foliares e colmos, via aumento dos teores de fibra e da espessura da parede celular, e decréscimos dos teores de PB e dos coeficientes de DIVMS.
- Lâminas foliares e colmos exibiram mais alto valor nutritivo no outono, quando se observaram mais baixos teores de fibra, menor percentagem de esclerênquima, paredes celulares menos espessas e mais elevados teores de PB e coeficientes de DIVMS.

- As células do mesofilo, do parênquima e do floema foram as únicas a sofrerem completa digestão *in vitro*.
- A espessura da parede de células do esclerênquima e do metaxilema foi a característica anatômica que mais fortemente se correlacionou com os componentes químicos e com a digestibilidade da forragem.
- Estimativas das proporções de mesofilo, xilema e esclerênquima, juntamente com avaliações da espessura da parede celular, podem ser combinadas com a composição química para melhorar a estimativa de valor nutritivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMS, S.M. Sources of error in predicting digestible dry matter from the acid-detergent fiber content of forages. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.21, p.205-8, 1988.
- AKIN, D.E. Section to slide technique for study of forage anatomy and digestion. *Crop Sci.*, v.22, p.444-6, 1982.
- AKIN, D.E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. *Agron. J.*, v. 81, n.1, p.17-25, 1989.
- AKIN, D.E., BURDICK, D. Percentage of tissue types in tropical and temperate grass leaf blades and degradation of tissues by rumen microorganisms. *Crop Sci.*, v.15, n.5, p.661-8, 1975.
- AKIN, D.E., CHESSON, A. Lignification as the major factor limiting forage feeding value specially in warm conditions. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 16, 1989, Nice, France. *Proceedings...* Nice, 1989. P.1753-60.
- AKIN, D.E., HARTLEY, R.D. UV absorption microspectrophotometry and digestibility of cell types of bermudagrass internodes at different stages of maturity. *J. Sci. Food Agric.*, v.59, p.437-47, 1992.
- AKIN, D.E., BROWN, R.H., RIGSBY, L.L. Digestion of stem tissues in *Panicum species*. *Crop Sci.*, v.24, n.4, p.769-73, 1984.
- 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 Sci.*, v.23, n.1, p.147-55, 1983.

- AKIN, D.E., AMOS, H.E., BARTON, F.E., BURDICK, D. Rumen microbial degradation of grass tissue by scanning electron microscopy. *Agron. J.*, v.65, n.5, p.825-8, 1973.
- AKIN, D.E., FALES, S.L., RIGSBY, L.L., SNOOK, M.E. Temperatures effects on leaf anatomy, phenolic acids and tissue digestibility in tall fescue. *Agron. J.*, v.79, n.2, p.271-5, 1987.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMIST - AOAC. *Official methods of analyses*. Washington, D.C.: AOAC, 1970. 1015p.
- BESLE, J.M., CORNU, A., JOUANY, J.P. Roles of structural phenylpropanoids in forage cell wall digestion. *J. Sci. Food. Agric.*, v.64, p.171-90, 1994.
- BOHN, P.J., BROWN, R.H., AKIN, D.E. *In vitro* dry matter digestibility, leaf anatomy, and fiber concentration of a hybrid between C₃ and C₃-C₄ *Panicum* species. *Crop Sci.*, v.28, p.332-6, 1988.
- BRETT, C., WALDRON, K. *Physiology and biochemistry of plant cell walls*. London: Cambridge University Press. 194p.
- BRITO, C.J.F.A., RODELLA, R.A., DESCHAMPS, F.C., ALQUINI, Y. Anatomia quantitativa e degradação *in vitro* de tecidos em cultivares de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach). *Rev. bras. zootec.*, v.28, n.2, p.223-9, 1999.
- BUXTON, D.R., FALES, S.L. Plant environment and quality. In: FAHEY, G.C. (Ed) *Forage quality, evaluation, and utilization*. Madison: American Society of Agronomy, Crop Sci. Society of America, Soil Sci. Society of America, 1994. p.155-99.
- BYOTT, G.S. Leaf air space system in C₃ and C₄ species. *New Phytol.* v.76, p.295-9, 1976.
- CHENG, K.J., FAY, J.P., HOWARTH, R.E., COSTERTON, J.W. Sequence of events in the digestion of fresh legume leaves by rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.40, p.613-25, 1980.
- CHERNEY, D.J.R., CHERNEY, J.H., PATTERSON, J.A. *In vitro* ruminal fiber digestion as influenced by phenolic-carbohydrate complexes released from sorghum cell walls. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.39, p.79-93, 1992.
- CHERNEY, J.H., MARTEN, G.C. Small grain crop forage potential: II. Interrelationships among biological, chemical, morphological, and anatomical determinants of quality. *Crop Sci.*, v.22, n.2., p.240-5, 1982.
- CHESSON, A., FORSBERG, C.W. Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. In: HOBSON, P.N. (Ed.) *The rumen microbial ecosystem*. London: Elsevier Applied Science, 1988, p.251-84.

- CHESSON, A., STEWART, C.S., DALGARNO, K., KING, T.P. Degradation of isolated grass mesophyll, epidermis and fibre cell wall in the rumen and by cellulolytic rumen bacteria in axenic culture. *J. Appl. Bacteriol.*, v.60, n.4, p.327-36, 1986.
- CONE, J.W., ENGELS, F.M. The influence of ageing on cell wall composition and degradability of three maize genotypes. *Anim. Feed Sci. Techn.*, v.40, p.331-42, 1993.
- DENGLER, N.G., DENGLER, R.E., DONNELLY, P.M., HATTERSLEY, P.W. Quantitative leaf anatomy of C₃ and C₄ grasses (Poaceae): bundle sheath and mesophyll surface area relationships. *Annals of Botany*, v.73. p.241-55, 1994.
- DIRVEN, J.G.P., DEINUM, B. The effect of temperature on digestibility of grasses. An analyses. *Forage Res.*, v.3, p.1-17, 1977.
- ENGELS, F.M. Developments in application of light and scanning electron microscopy techniques for cell wall degradation studies. *Neth. J. Agric. Sci.*, v.44, p.357-73, 1996.
- ENGELS, F.M., SCHUURMANS, J.L.L. Relationship between structural development of cell walls and degradation of tissues in maize stems. *J. Sci. Food Agric.*, v.59, p.45-51, 1992.
- FAHEY Jr., G.C., HUSSEIN, H.S. Forty years of forage quality research: accomplishments and impact from an animal nutrition perspective. *Crop Sci.*, v.39, p.4-12, 1999.
- FALES, S.L. Effects of temperature of fiber concentration, composition, and *in vitro* digestion kinetics of tall fescue. *Agron. J.*, v.78, p.963-6, 1986.
- FORD, C.W., MORRISON, I.M., WILSON, J.R. Temperature effects on lignin, hemicellulose and cellulose in tropical and temperate grasses. *Aust. J. Agric. Res.*, v.30, p.621-33, 1979.
- GOMIDE, C.A.M. *Morfogênese e análise de crescimento de quatro cultivares de Panicum maximum cultivadas em vaso*. Viçosa-MG: UFV, 1997. 53p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1997.
- GORDON, A.J. A comparison of some chemical and physical properties of alkali lignins from grass and lucerne hays before and after digestion by sheep. *J. Sci. Food Agric.*, v.26, p.1551-9, 1975.
- GRABBER, J.H., JUNG, G.A. *In Vitro* disappearance of carbohydrates, phenolic acids, and lignin from parenchyma and sclerenchyma cell walls isolated from cocksfoot. *J. Sci. Food Agric.*, v.57, p.315-23, 1991.

- GRABBER, J.H., JUNG, G.A., ABRAMS, S.M., HOWARD, D.B. Digestion kinetics of parenchyma and sclerenchyma cell walls isolated from orchardgrass and switchgrass. *Crop Sci.*, v.32, p.806-10, 1992.
- HACKER, J.B., MINSON, D.J. The digestibility of plant parts. *Herb. Abstr.*, v.51, n.9, p.459-82, 1981.
- HAGQUIST, C.W. Preparation and care of microscope slides. *Am. Biol. Teacher.*, v.36, p.414-7, 1974.
- HALIM, R.A., BUXTON, D.R., HATTENDORF, M.J. Water-stress effects on alfalfa forage quality after adjustment for maturity differences. *Agron. J.*, v.81, p.189, 1989.
- HANNA, W.W., MONSON, W.G., BURTON, G.W. Histological examination of fresh forages leaves after *in vitro* digestion. *Crop Sci.*, v.13, n.1, p.98-102, 1973.
- HANNA, W.W., MONSON, W.G., BURTON, G.W. Histological and *in vitro* digestion study of 1 and 4-week stems and leaves from high and low quality bermudagrass genotypes. *Agron. J.*, v.68, n.2, p.219-22, 1976.
- HARTEST, A.A., OWENSBY, C.E., HARBERS, L.H. Rumen microbial degradation of indiangrass and big bluestem leaf blades. *J Anim. Sci.*, v.57, n.6, p.1626-36, 1983.
- HARTLEY, R.D.P. Coumaric and ferulic acid components of cell wall of ryegrass and their relationship with lignin and digestibility. *J. Sci. Food. Agric.*, v.23, p.1347-54, 1972.
- HATFIELD, R.D. Structural polysaccharides in forages and their degradability. *Agron. J.*, v.81, p.30-46, 1989.
- HATFIELD, R.D., RALPH, J., GRABBER, J.H. Cell wall structural foundations: molecular basis for improving forage digestibilities. *Crop Sci.*, v.39, p.27-37, 1999.
- HATTERSLEY, P.W., BROWNING, A.J. Occurrence of suberized lamella in leaves of grasses of different photosynthetic types. I. In parenchymatous bundle sheaths and PCR ("Kranz") sheaths. *Protoplasma*, v.109, n.3/4, p.371-401, 1981.
- HILL, G.M., GATES, R.N., WEST, J.W., MANDEBVU, P. Pesquisa com capim bermuda cv. "tifton 85" em ensaios de pastejo e de digestibilidade de feno com bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 15, 1998, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: FEALQ-USP, 1998. p.7-22.
- JOHNSON, W.L., GUERRERO, J., PEZO, D. Cell wall constituents and *in vitro* digestibility of napier grass (*Pennisetum purpureum*). *J. Anim. Sci.*, v.37, n.5, p.1255-61, 1973.

- JUNG, H.G. Forage lignins and their effects on fiber digestibility. *Agron. J.*, v.81, p.33-8, 1989.
- JUNG, H.G., ALLEN, M.S. Characteristics of plant cell wall affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *J. Anim. Sci.*, v.73, p.2774-90, 1995.
- JUNG, H.G., CASLER, M.D. Relationship of lignin and esterified phenolics to fermentation of smooth bromegrass fibre. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.32, p.63, 1991.
- JUNG, H.G., DEETZ, D.A. Cell wall lignification and degradability. In: JUNG, H.G., BUXTON, D.R., HATFIELD, R.D. et al. (Ed) *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison: American Society of Agronomy, Crop Sci. Society of America, Soil Sci. Society of America, 1993. p.315-46.
- JUNG, H.G., VOGEL, K.P. Lignification of switchgrass (*Panicum virgatum*) and big bluestem (*Andropogon gerardii* Vitman) plant parts during maturation and its effect on fibre degradability. *J. Sci. Food Agric.*, v.59, p.769-76, 1992.
- JUNG, H.G., MERTENS, D.R., PAYNE, A.J. Correlation of acid detergent lignin and klason lignin with digestibility of forage dry matter and neutral detergent fiber. *J. Dairy Sci.*, v.80, p.1622-8, 1997.
- JUNG, H.G., SMITH, R.R., ENDRES, C.S. Cell wall composition and degradability of stem tissue from lucerne divergently selected for lignin and in vitro dry matter disappearance. *Grass Forage Sci.*, v.49, p.295, 1994.
- LAETSCH, W.M. The C4 syndrome: a structural analysis. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, v.25, p.27-52, 1974.
- LEMPP, B., EZEQUIEL, J.M.B., SANTOS, J.M., FILHO, C.F.D., FIGUEIREDO, L.F.C., FAVORETTO, V., CATTELAN, J.W., JUNIOR, A.P.M. Observação da estrutura girder na taxa de digestão dos tecidos em lâminas de *Panicum maximum* Jacq. cv. aruana e vencedor. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34, 1997, Juiz de Fora. *Anais...* Juiz de Fora, SBZ, 1997. p.12-4.
- LEMPP, B., EZEQUIEL, J.M.B., SANTOS, J.M., FILHO, C.F.D., ZIMMER, A.H., FAVORETTO, V., JUNIOR, A.P.M., FIGUEIREDO, L.F.C. Observação da taxa de digestão das células de mesofilo de duas cultivares de *Panicum maximum* Jacq., águas e seca. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998, Botucatu. *Anais...* Botucatu, SBZ, 1998. p.269-71.
- MACADAM, J.W., KERLEY, M.S., PIWONKA, E.J. Tiller development influences seasonal change in cell wall digestibility of big bluestem (*Andropogon gerardii*). *J. Sci. Food Agric.*, v.70, p.79-88, 1996.
- MARVIN, H.J.P., KRECHTING, C.F., VAN LOO, E.N., CHARLES, H.A.S., LOMMEN. A., DOLSTRA, O. Relationship between phenolic acids formed

- during rumen degradation of maize samples and *in vitro* digestibility. *J. Sci. Food Agric.*, v.71, p.111-18, 1996.
- MERTENS, D.R. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. *J. Anim. Sci.*, v.64, n.5, p.1548-58, 1987.
- MILFORD, R., MINSON, D.J. Intake of tropical pasture species. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE PASTAGENS, 9, 1965, São Paulo. *Anais...* São Paulo: Alarico, 1966. p.815-22.
- MINSON, D.J. Effect of chemical composition on feed digestibility and metabolizable energy. *Nutr. Abstr. Rev.*, v.52, p.592-614, 1982.
- MINSON, D.J. *Forage in ruminant nutrition*. New York: Academic Press, 1990. 483p.
- MINSON, D.J., WILSON, J.R. Prediction of intake as an element of forage quality. FAHEY, G.C. et al. (Eds.) *Forage quality, evaluation, and utilization*. Madison: American Society of Agronomy, Crop Sci. Society of America, Soil Sci. Society of America, 1994. p.533-63.
- MOGHADDAM, P.R., WILMAN, D. Cell wall thickness and cell dimensions in plant parts of eight forage species. *J. Agric. Sci.*, v.131, p.59-67, 1998.
- MTENGETI, E.J., WILMAN, D., MOSELEY, G. Differences between twelve forage species in physical breakdown when eaten. *J. Agric. Sci.*, v.126, p.287-93, 1996.
- NELSON, C.J., MOSER, L.E. Plant factors affecting forage quality. In: FAHEY, G.C. (Ed.) *Forage quality, evaluation, and utilization*. Madison: American Society of Agronomy, Crop Sci. Society of America, Soil Sci. Society of America, 1994. p. 115-54.
- PACIULLO, D.S.C., MATTOS, J.L.S., GOMIDE, J.A., QUEIROZ, D.S., da SILVA, E.A.M. Proporção de tecidos e espessura da parede celular em espécies de braquiária, cultivadas sob diferentes níveis de umidade no solo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36, 1999, Porto Alegre. *Anais...* Porto Alegre, SBZ, 1999. p.37.
- QUEIROZ, D.S. *Características anatômicas, químicas e digestibilidade "in vitro" de três gramíneas forrageiras*. Viçosa-MG: UFV, 1997. 90p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1997.
- QUEIROZ, D.S., GOMIDE, J.A., MARIA, J. Avaliação da folha e do colmo de topo e base de perfilhos de três gramíneas forrageiras. 1. Digestibilidade *in vitro* e composição química. *Rev. bras. zootec.*, v.29, n.1, p.53-60, 2000a.
- QUEIROZ, D.S., GOMIDE, J.A., MARIA, J. Avaliação da folha e do colmo de topo e base de perfilhos de três gramíneas forrageiras. 2. Anatomia. *Rev. bras. zootec.*, v.29, n.1, p.61-68, 2000b.

- RAYMOND, W.F. Components in the nutritive value of forages. In: HARRISON, C.M., STELLY, M. BRETH, S.A. (ed.) *Forage economics - quality*. 1968. (ASA Special Publication, 13).
- REID, R.L. Milestone in forage research. In: FAHEY, G.C. (Ed.) *Forage quality, evaluation, and utilization*. Madison: American Society of Agronomy, Crop Sci. Society of America, Soil Sci. Society of America, 1994. p.1-58.
- RIBEIRO, K.G., GOMIDE, J.A., PACIULLO, D.S.C. Adubação nitrogenada do capim-elefante cv. mott. 2. Valor nutritivo ao atingir 80 e 120 cm de altura. *Rev. bras. zootec.*, v.28, n.6, p.1194-1202, 1999.
- ROBSON, M.J. The growth and development of simulated swards of perennial ryegrass. I: Leaf growth and dry weight change as related to the ceiling yield of a seedling sward. *Annals of Botany*, v.37, p.487-500, 1973.
- RODELLA, A.R., AYOUB, J.F., RODELLA, R.C.S.M. Estudo quantitativo de características anatômicas da folha de *Panicum maximum* Jacq. e *Panicum coloratum* L. *Rev. Agric.*, v.59, p.163-74, 1984.
- SILVA, D.J. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*, 2.ed. Viçosa, MG, UFV, 1990. 165p.
- SILVA, D.S., GOMIDE, J.A., QUEIROZ, A.C. Pressão de pastejo em pastagem de capim-elefante anão (*Pennisetum purpureum*, Schum cv. Mott): Efeito sobre o valor nutritivo, consumo de pasto e produção de leite. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v.23, n.3, p.453-64, 1994.
- SILVA, J.H.S., JOHNSON, W.L., BURNS, J.C., ANDERSON, C.E. Growth and environment effects on anatomy and quality of temperate and subtropical forage grasses. *Crop Sci.*, v.27, n.6, p.1266-73, 1987.
- STRUIK, P.C. Digestibility of plant fractions from different genotypes and predictability of quality of forage maize in northwest Europe. *Neth. J. Agric. Sci.*, v.33, p.56-9, 1985.
- TERASHIMA, N., FUKUSHIMA, K., HE, L-F., TAKABE, K. Comprehensive model of the lignified plant cell wall. In: JUNG, H.G., BUXTON, D.R., HATFIELD, R.D. et al. (Ed) *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison: American Society of Agronomy, Crop Sci. Society of America, Soil Sci. Society of America, 1993. p.247-70.
- TILLEY, J.M., TERRY, R.A. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forages crops. *J. Brit. Grassl. Soc.*, v.18, n.2, p.104-11, 1963.
- TITGEMEYER, E.C., COCHRAN, R.C., TOWNE, E.G. Elucidation of factors associated with the maturity-related decline in degradability of big bluestem cell wall. *J. Anim. Sci.*, v.74, p.648-57, 1996.

- TWIDWELL, E.K., JOHNSON, K.D., BRACKER, C.E., PATTERSON, J.A., CHERNEY, J.H. Plant tissue degradation measurement using image analysis. *Agron. J.*, v.81, n.5, p.837-40, 1989.
- TWIDWELL, E.K., JOHNSON, K.D., CHERNEY, J.H. Degradation of switchgrass anatomical tissue by rumen microorganisms. *Crop Sci.*, v.30, p.1321-28, 1991.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. Sistemas de Análises Estatísticas e genética – SAEG. Viçosa, MG: UFV. 1995 (Apostila)
- VAN SOEST, P.J. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: voluntary intake relation to chemical composition and digestibility. *J. Anim. Sci.*, v.24, n.3, p.834-44, 1965.
- VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2.ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476p.
- WEISS, W.P. Estimation of digestibility of forages by laboratory methods. In: FAHEY, G.C. (Ed.) *Forage quality, evaluation, and utilization*. Madison: American Society of Agronomy, Crop Sci. Society of America, Soil Sci. Society of America, 1994. p. 644-81.
- WHEELER, J.L., HAMILTON, B.A., HEDGES, D.A. Effects of sodium fertilizer, cultivar, temperature and growth stage on the mineral content and nutritive value of sorghum forage. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, v.24, p.565-70, 1984.
- WHETTEN, R.W., MACKAY, J.J., SEDEROFF, R.R. Recent advances in understanding lignin biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.*, v.49, p.585-609, 1998.
- WILKINS, R.J. The potential digestibility of cellulose in grasses and its relationships with chemical and anatomical parameters. *J. Agric. Sci.*, v.78, n.3, p.457-64, 1972.
- WILMAN, D., MOGHADDAM, P.R. *In vitro* digestibility and neutral detergent fibre and lignin contents of plant parts of nine forage species. *J. Agric. Sci.*, v.131, p.51-8, 1998.
- WILMAN, D., MTENGETI, E.J., MOSELEY, G. Physical structure of twelve forage species in relation to rate of intake by sheep. *J. Agric. Sci.*, v.126, p.277-85, 1996.
- WILSON, J.R. Variation of leaf characteristics with level of insertion on a grass tiller. I. Development rate, chemical composition, and dry matter digestibility. *Aust. J. Agric. Res.*, v.27, n.3, p.343-54, 1976a.
- WILSON, J.R. Variation of leaf characteristics with level of insertion on a grass tiller. II. Anatomy. *Aust. J. Agric. Res.*, v.27, n.3, p.355-64, 1976b.

- WILSON, J.R. Environmental and nutritional factors affecting herbage quality. In: HACKER, J.B. (Ed.). *Nutritional limits to animal production from pastures*. Sta. Lucia: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1982. p. 111-31.
- 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: American Society of Agronomy, Crop Sci. Society of America, Soil Sci. Society of America, 1993. p.1-32.
- WILSON, J.R. Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. *J. Agric. Sci.*, v.122, n.2, p.173-82, 1994.
- 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., HATFIELD, R.D. Structural and chemical changes of cell wall types during stem development: consequences for fibre degradation by rumen microflora. *Aust. J. Agric. Res.*, v.48, p.165-80, 1997.
- WILSON, J.R., HATTERSLEY, P.W. Anatomical characteristics and digestibility of leaves of *Panicum* and other grass genera of C₄ photosynthetic pathway. *Aust. J. Agric. Res.*, v.40, n.1, p.125-36, 1989.
- WILSON, J.R., MERTENS, D.R. Cell wall accessibility and cell structure limitations to microbial digestion of forage. *Crop Sci.*, v.35, n.1, p.251-9, 1995.
- WILSON, J.R., ANDERSON, K.L., HACKER, J.B. Dry matter digestibility *in vitro* of leaf and stem of buffel grass (*Cenchrus ciliaris*) and related species and its relation to plant morphology and anatomy. *Aust. J. Agric. Res.*, v.40, n.2, p.281-91, 1989a.
- WILSON, J.R., AKIN, D.E., McLEOD, M.N., MINSON, D.J. Particle size reduction of the leaves of a tropical and temperate grass by cattle. II. Relation of anatomical structure to the process of leaf breakdown through chewing and digestion. *Grass and Forage Sci.*, v.44, n.1, p.65-75, 1989b.
- WILSON, J.R., BROWN, R.H., WINDHAM, W.R. Influence of leaf anatomy on dry matter digestibility of C₃, C₄, and C₃/C₄ intermediate types of *Panicum* species. *Crop Sci.*, v.23, n.1, p.141-46, 1983.
- WILSON, J.R., DEINUM, B., ENGELS, F.M. Temperature effects on anatomy and digestibility of leaf and stem of tropical and temperate forage species. *Neth. J. Agric. Sci.*, v.39, n.1, p.31-48, 1991.
- WILSON, J.R., MERTENS, D.R., HATFIELD, R.D. Isolates of cell types from sorghum stems: digestion, cell wall and anatomical characteristics. *J. Sci. Food Agric.*, v.63, p.407-17, 1993.