



Características anatômicas e valor nutritivo de quatro gramíneas predominantes em pastagem natural de Viçosa, MG

Maristela de Oliveira Bauer^{1*}, José Alberto Gomide², Eldo Antônio Monteiro da Silva³, Adair José Regazzi⁴, José Franklim Chichorro⁵

¹ Programa de Pós-graduação em Zootecnia - UFV, Viçosa - MG.

² Departamento de Zootecnia - UFV, Viçosa - MG.

³ Departamento de Botânica - UFV, Viçosa - MG.

⁴ Departamento de Informática - UFV, Viçosa - MG.

⁵ Departamento de Engenharia Florestal - UFMT, Cuiabá - MT.

RESUMO - Avaliou-se a influência das características anatômicas e dos sítios de lignificação dos tecidos sobre o valor nutritivo de lâminas foliares de quatro gramíneas coletadas nas estações chuvosa e seca. Amostras frescas das duas últimas lâminas foliares recém-expandidas, correspondentes à última e à penúltima posição no perfilho de capim-gordura (*Melinis minutiflora* Pal. De Beauv), capim-braquiária (*Brachiaria decumbens* Staph.), capim-sapé (*Imperata brasiliensis* Trin.) e capim-jaraguá (*Hyparrhenia rufa* (Nees) Staph.) foram avaliadas quanto às características anatômicas, segundo técnicas de microscopia de luz e varredura. Nessas amostras analisou-se a proporção de tecidos e de sítios de lignificação. Também foram determinadas as concentrações de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina e celulose da parede celular, assim como a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS). Os dados foram analisados segundo delineamento inteiramente casualizado, com os tratamentos no esquema fatorial, com três repetições. Determinaram-se as correlações entre DIVMS, componentes químicos da parede celular e proporção de tecidos. Observou-se o mesmo padrão de proporção de tecidos e DIVMS no capim-gordura e no capim-braquiária, assim como nos capins sapé e jaraguá. A digestibilidade *in vitro* da matéria seca e os componentes da parede celular sofreram influência da estação, enquanto as características anatômicas não foram significativamente influenciadas por esse fator. Os capins gordura e braquiária caracterizaram-se por maiores proporções de bainha parenquimática do feixe e os capins sapé e jaraguá por maiores proporções de xilema e esclerênquima. Altos coeficientes negativos de correlação foram estabelecidos entre os coeficientes de digestibilidade e as proporções de xilema e esclerênquima, assim como com os teores de FDN, FDA e lignina das lâminas foliares.

Palavras-chave: composição química, correlação linear, digestibilidade *in vitro*, lignina, proporção de tecidos, sítio de lignificação

Anatomical evaluation and nutritive value of four prevailing forage grasses in natural pasture of Viçosa-MG

ABSTRACT - It was evaluated the effect of anatomical characteristics and tissue lignification sites on the leaf blade nutritive value of four grasses sampled during the dry and rainy season. Fresh samples of the two last expanded leaf blades on the tiller tops of molassesgrass (*Melinis minutiflora* Pal. De Beauv), signalgrass (*Brachiaria decumbens* Staph.), sapeggrass (*Imperata brasiliensis* Trin.) and, jaraguagrass (*Hyparrhenia rufa* (Nees) Staph.) were collected in the rainy and dry seasons. These samples were evaluated according to anatomical characteristics using light and scan microscopy (proportion of xylem and sclerenchyma tissues), chemical composition and *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD). The experimental data were submitted to statistical analysis appropriate to the completely random design, in the factorial arrangement with three replications per treatment. The same pattern of tissue proportion and IVDMD values were observed for molassesgrass and signalgrass, as well as for sapeggrass and jaraguagrass. The seasons of the year influenced the IVDMD and the concentrations of the cell wall components, but their effect on the leaf blades anatomical characteristics was inconsistent. Significant and negative correlation coefficients were observed between the IVDMD and the proportions of lignified vascular bundle sheath, sclerenchyma and phloem as well as with NDF, ADF and lignin contents of the leaf blades.

Key Words: chemical composition, lignin, linear correlation, *in vitro* digestibility, site of lignification, tissue proportion

Introdução

O valor nutritivo da forragem, tradicionalmente, é avaliado por meio de análises químico-bromatológicas. Recentemente, têm-se aliado às avaliações do valor nutritivo estudos do arranjo e da proporção dos tecidos para elucidar o potencial de digestibilidade das plantas (Wilson et al., 1989a; Wilson et al., 1989b; Queiroz et al., 2000; Paciullo et al., 2002; Alves de Brito et al., 2004).

A maior variação na digestibilidade da matéria seca (MS) de gramíneas tropicais não é resultante da proporção de cada tecido, mas da digestibilidade dos diversos tecidos (Akin et al., 1983). Entre os constituintes da parede celular dos tecidos, a celulose e a hemicelulose são normalmente a maior fonte de substrato disponível para fermentação no rúmen e constituem a principal fonte de energia para o ruminante. No entanto, a presença de lignina na parede celular influencia a digestibilidade dessas substâncias.

Em parte, as variações na digestibilidade entre gramíneas podem ser explicadas pelas diferenças na proporção de tecidos, que degradam de forma diferenciada em virtude dessa composição química, da espessura da parede celular e da compactação das células (Akin, 1989; Paciullo, 2002).

A epiderme das plantas é a primeira barreira na folha a ser vencida pelos microrganismos do rúmen para digestão das partículas, pois é um tecido de proteção, com estrutura para resistir ao estresse físico normal (murchamento, estiramento, expansão e compressão) e à invasão por microrganismos (Wilson, 1997); suas paredes periclinais externas dificultam essa penetração por serem de natureza cutinizada e lignificada (Hanna et al., 1973).

A face abaxial da epiderme em gramíneas tropicais é firmemente segura aos feixes vasculares por células de parede grossa e lignificada de esclerênquima, enquanto a face adaxial nem sempre se apresenta presa aos feixes. Essa estrutura formada pelo esclerênquima e pelos feixes vasculares é chamada estrutura de viga em I, quando as duas epidermes estão aderidas pelo esclerênquima, ou em T, quando a ligação ocorre apenas com a epiderme abaxial. Em gramíneas de clima temperado e em leguminosas, isso não ocorre porque a epiderme é fixada apenas pelas células do mesofilo (Wilson & Mertens, 1995).

A epiderme e a bainha parenquimática do feixe de lâminas foliares de gramíneas tropicais são tecidos de lenta digestão ou parcialmente digestíveis. Normalmente, as células do mesofilo, assim como as do floema, são de rápida digestão, por possuírem parede celular delgada, e não constituem barreira física, enquanto esclerênquima e xilema são de baixa digestão e indigestíveis, respectivamente (Akin, 1989, 1993).

O ambiente e a maturidade fisiológica podem influenciar significativamente a digestibilidade das plantas forrageiras. O maior efeito ambiental é provocado pela temperatura sob a qual a planta se desenvolve, pois altas temperaturas de crescimento aceleram o espessamento da parede celular e induzem à lignificação sem causar mudanças marcantes na anatomia foliar (Ford et al., 1979; Akin et al., 1987). Contudo, a maturidade pode provocar, além da lignificação da parede celular, aumento na proporção dos tecidos lignificados (Wilkins, 1972; Jung, 1989; Alves de Brito et al., 1999; Paciullo et al., 2002). Segundo Akin & Burdick (1973), os sítios de lignificação podem ser mais importantes que a quantidade de lignina presente na planta.

As diferenças anatômicas das plantas, os sítios de lignificação e os fatores que afetam a degradação dos tecidos vegetais pelos microrganismos do rúmen podem ser analisados pelas técnicas de microscopia e, assim, auxiliar na avaliação do valor nutricional de plantas forrageiras (Akin et al., 1974; van der Heijden et al., 1995; Engels, 1996; Travis et al., 1997).

Objetivou-se com este trabalho avaliar a influência das características anatômicas e dos sítios de lignificação dos tecidos sobre o valor nutritivo de lâminas foliares de quatro gramíneas amostradas nas estações chuvosa e seca.

Material e Métodos

As gramíneas capim-gordura (*Melinis minutiflora* Pal. De Beauv), capim-jaraguá (*Hyparrhenia rufa* (Nees) Staph.), capim-braquiária (*Brachiaria decumbens* Staph.) e capim-sapé (*Imperata brasiliensis* Trin.) foram coletadas em seus respectivos canteiros no Campo Agrostológico do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, localizada a 20°45' de latitude sul e 42°54' de longitude oeste, a uma altitude média de 650 m. O clima é do tipo Cwb (classificação Köppen), tropical de altitude, com verões quentes e chuvosos (Tabela 1).

Os canteiros experimentais ficaram sujeitos às condições ambientais e passaram por uma limpeza no mês de agosto de 1997 e às plantas foi permitido crescerem livremente. As unidades experimentais foram representadas pelos canteiros de 5 m², com área útil de 1,0 m². As coletas do material vegetal foram realizadas pelo método do corte direto (t' Mannetje, 1978) na primeira semana dos meses de dezembro de 1997 e setembro de 1998 e representaram as estações, chuvosa e seca, respectivamente.

As amostras das espécies constituídas de lâminas foliares frescas recém-expandidas foram tomadas ao acaso e corresponderam à última e penúltima posição no perfilho;

Tabela 1 - Variáveis climáticas durante o período experimental

Mês/ano	Precipitação total (mm)	Temperatura média (°C)	Temperatura máxima média (°C)	Temperatura mínima média (°C)	Umidade relativa do ar (%)
Outubro/97	131,90	22,26	27,66	16,85	75,79
Novembro/97	180,30	24,30	29,54	19,06	78,47
Dezembro/97	238,90	24,65	29,73	19,57	79,49
Mai/98	72,50	19,42	25,39	13,45	81,61
Junho/98	0,20	17,23	22,94	11,52	82,12
Julho/98	0,50	17,68	24,58	10,77	78,79
Agosto/98	49,80	20,19	26,07	14,30	82,18
Setembro/98	5,60	21,50	27,55	15,44	73,20

foram subdivididas em duas subamostras: uma para análise químico-bromatológica e outra para análise histológica.

As amostras destinadas às análises químico-bromatológicas foram embaladas individualmente em sacos de papel perfurados, pesadas e pré-secas em estufa de ventilação forçada a 65°C, durante 72 horas, até atingirem peso constante. Em seguida, foram novamente pesadas, trituradas em moinho tipo *Willey* com peneiras de 30 *mesh* e acondicionadas em vidros para as análises químicas (Silva & Queiroz, 2002).

Os teores de MS foram obtidos depois que as amostras foram pré-secas em estufa a 105°C e a composição química da parede celular foi determinada analisando-se os teores de FDN, FDA, lignina (método do permanganato de potássio) e celulose, de acordo com a metodologia descrita por Silva & Queiroz (2002). A digestibilidade *in vitro* de MS (DIVMS) foi avaliada segundo metodologia proposta por Tilley & Terry (1963), em dois estádios de fermentação.

Para análise histológica, as lâminas foliares foram fragmentadas na porção mediana, em segmentos de 2 a 4 mm de comprimento, embaladas individualmente em sacolas plásticas e preparadas conforme técnicas de microscopia de luz e varredura para que fossem analisados quanto à proporção de tecidos e sítios de lignificação.

A recomendação de Bozzola & Russell (1991) foi utilizada no preparo das amostras para microscopia eletrônica de varredura. A documentação foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (MEV) da marca JEOL T20, eletromicrografado com filme PXP-120.

O preparo das lâminas histológicas para microscopia de luz consistiu na fixação do material em FAA 50% (formol-ácido acético-álcool etílico), na desidratação em série alcoólica progressiva (álcool etílico-butílico) (Johansen, 1940), inclusão e no emblocamento em paraplast. Os cortes com espessura de aproximadamente 10 µm foram fixados em lâminas histológicas. A remoção do paraplast impregnado nos cortes e a coloração do material foram realizadas

conforme protocolo recomendado por Hagquist (1974) e a montagem foi feita em bálsamo-do-canadá.

Os cortes foram documentados utilizando-se um fotomicroscópio OLYMPUS AX70, com filmes coloridos e preto-e-branco TMAX ISO 100.

As medidas de proporção de tecidos (% na seção transversal) foram realizadas nas lâminas microscópicas utilizando-se o programa computacional IMAGE-PROPLUS de um microcomputador acoplado a um microscópio binocular da marca OLYMPUS BX-50.

Nos cortes histológicos, foram mensuradas duas áreas ao longo da seção transversal projetada no vídeo entre dois feixes vasculares grandes para as quais se obteve a média da área total dos feixes vasculares (FVtotal), do xilema (XIL), da bainha parenquimática dos feixes (BPF), do floema (FLO), das epidermes abaxial (EPI) e adaxial (EPS), do esclerênquima (ESC) e, por diferença, a do mesofilo (MES). O xilema refere-se ao xilema meta e protoxilema e às fibras associadas, equanto o termo mesofilo, ao parênquima clorofiliano.

A avaliação dos sítios de lignificação dos tecidos foi realizada por meio da coloração quádrupla triarca (Hagquist, 1974) com o objetivo de aumentar o contraste na coloração dos tecidos, decorrente de sua constituição, de modo que cada tecido ou estrutura fosse colorido com um corante específico. A coloração vermelha obtida pela reação positiva da safranina O detecta a presença de compostos fenólicos como lignina, suberina ou cutina (Lempp, 1997).

Os dados de proporção de tecidos, de DIVMS e da composição química da parede celular foram submetidos à análise estatística, em delineamento inteiramente casualizado, com os tratamentos em esquema fatorial com três repetições, pertinente ao seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + E_j + SE_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

$$\text{com } i = 1, 2, \dots, 4; j = 1, 2; k = 1, 2 \text{ e } 3$$

em que Y_{ijk} = observação referente à avaliação k , para a espécie i , na estação j ; μ = média geral; S_i = efeito da espécie

i ; E_j = efeito do estação j ; SE_{ij} = efeito da interação espécie \times estação; e ϵ_{ijk} = erro aleatório associado à observação Y_{ijk} , suposto normal e independentemente distribuído com média 0 e variância σ^2 .

As médias obtidas para espécie foram comparadas pelo teste Tukey a 1% de probabilidade. Em seguida, foi realizado o estudo das correlações entre DIVMS, componentes químicos da parede celular e proporção de tecidos, de acordo com o procedimento PROC CORR do programa computacional SAS (1990).

Resultados e Discussão

A digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS) das gramíneas foi significativamente influenciada ($P < 0,01$) pela estação e pela espécie (Tabela 2).

Houve diferença significativa ($P < 0,01$) entre as estações quanto aos coeficientes de digestibilidade do capim-jaraguá e do capim-braquiária. Enquanto a DIVMS do capim-jaraguá decresceu em 16,4 unidades percentuais na estação seca, o contrário foi observado no capim-braquiária, cuja DIVMS aumentou em 11,3 unidades, tornando-se mais digestível nessa estação. Os menores teores de FDN e FDA do capim-braquiária sugerem efeito positivo da estação seca sobre sua digestibilidade. Entretanto, esse mesmo comportamento das variáveis não refletiu na digestibilidade das demais espécies, especialmente o capim-jaraguá.

Entre as espécies avaliadas, o capim-braquiária se destacou como a mais digestível, 75% na estação seca e

63,7% na estação chuvosa. A menor digestibilidade foi registrada para o capim-sapé, com percentuais extremamente baixos, 21,9 e 23,7%, respectivamente.

Os teores de celulose das amostras foram mais altos na estação chuvosa ($P < 0,01$), enquanto o teor de lignina das quatro gramíneas não foi influenciado pela estação ($P > 0,01$).

Os teores de FDN, FDA, celulose e lignina de todas as espécies apresentaram um padrão de variação semelhante em resposta às estações (Tabela 2). Os capins sapé e jaraguá foram as espécies com maiores teores de parede celular, enquanto o capim-braquiária e o capim-gordura apresentaram paredes mais delgadas e menos lignificadas. Assim, as diferenças de digestibilidade entre as espécies, em parte, poderiam ser atribuídas a esses fatores, especialmente aos teores de lignina, pois, no estudo das correlações entre a DIVMS e os componentes da parede celular (Tabela 3), todos os componentes da parede celular apresentaram correlação negativa ($P < 0,001$ e $P < 0,01$) com a digestibilidade, contudo, essa correlação foi maior com a lignina.

A afirmativa corrobora as considerações de Reis & Rodrigues (1993) de que as variações ocorrentes na digestibilidade podem estar relacionadas às alterações nos teores de fibra, lignina, sílica e, em menor extensão, aos teores de PB. Assim, essas variações são atribuídas às diferenças entre espécies e genótipos, estádios de desenvolvimento, condições ambientais e práticas de manejo. Nesse sentido, Barton et al. (1976), ao investigarem as relações entre composição química e DIVMS de forrageiras tropicais e de clima temperado, obtiveram equações de regressão para prever a digestibilidade de todas as espé-

Tabela 2 - Coeficientes de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina e celulose de três gramíneas nas estações chuvosa e seca

Variável	Estação	Espécie			
		Capim-gordura	Capim-sapé	Capim-jaraguá	Capim-braquiária
(% na matéria seca)					
DIVMS	Chuvosa	61,9Aa	23,7Ac	54,7Ab	63,7Ba
	Seca	64,8Ab	21,9Ad	38,3Bc	75,0Aa
FDN	Chuvosa	69,2Ad	83,5Aa	76,9Ab	71,5Ac
	Seca	63,3Bc	78,1Ba	67,5Bb	63,6Bc
FDA	Chuvosa	33,6Ab	46,3Aa	45,9Aa	33,3Ab
	Seca	29,7Bb	41,4Ba	40,5Ba	27,9Bb
Lignina		3,2c	10,1a	5,4b	4,5c
Celulose	Chuvosa	27,1Ac	34,7Ab	36,1Aa	22,8Ad
	Seca	25,7Bc	30,7Ba	28,5Bb	22,1Ad

Valores médios das estações, em cada espécie, seguidos pela mesma letra maiúscula não diferem ($P > 0,01$) entre si pelo teste F. Valores médios das espécies, em cada estação, seguidos de uma mesma letra minúscula não diferem ($P > 0,01$) entre si pelo teste Tukey.

Tabela 3 - Coeficientes de correlação linear simples entre DIVMS e componentes químicos e anatômicos de lâminas foliares das gramíneas DIVMS e tecidos anatômicos DIVMS e composição química

	DIVMS ¹	FDN	FDA	LIG	CEL
DIVMS ¹		-0,75***	-0,78***	-0,89***	-0,67**
FVtotal	-0,62**	0,33 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,73***	0,24 ^{ns}
BPF	0,65**	-0,65**	-0,89***	-0,49*	-0,74***
FLO	-0,70***	0,55**	0,72***	0,64**	0,59**
XIL	-0,85***	0,73***	0,90***	0,75***	0,77***
ESC	-0,90***	0,67***	0,88***	0,77***	0,79***
EPS	0,70***	-0,74***	-0,58*	-0,82***	-0,38 ^{ns}
EPI	0,84***	-0,73***	-0,76***	-0,82***	-0,64**
MES	-0,12 ^{ns}	0,45 ^{ns}	0,28 ^{ns}	0,22 ^{ns}	0,08 ^{ns}

¹ DIVMS - digestibilidade *in vitro* da matéria seca; FDN - fibra em detergente neutro; FDA - fibra em detergente ácido; LIG - lignina; CEL - celulose; FVTotal - feixe vascular total; BPF - bainha parenquimática do feixe; FLO - floema; XIL - xilema; ESC - esclerênquima; EPS - epiderme adaxial; EPI - epiderme abaxial; MES - mesofilo.

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

cies. As equações continham as variáveis: proteína, hemicelulose e lignina e os autores concluíram que a lignina foi a variável mais importante da digestibilidade, especialmente nas equações das gramíneas de clima temperado, enquanto os teores de proteína se destacaram nas equações das gramíneas de clima tropical.

Os fatores que influenciam a utilização da forrageira pelos ruminantes ou a detecção de pequenas diferenças na digestibilidade entre espécies não podem ser perfeitamente identificados pelos métodos tradicionais de análise de alimentos, pois, no processamento das amostras, muitas diferenças anatômicas são desconsideradas. Assim, as diferenças entre plantas se restringem às suas variações na composição química, uma vez que a moagem diminui as barreiras físicas do material e reduz a compactação dos tecidos e a espessura da parede celular, o que expõe a parede celular aos microrganismos facilitando sua digestão (Grabber & Allinson, 1992).

Um modelo conceitual para relacionar a composição química com a anatomia da planta foi proposto por Minson (1990) como base para caracterizar as diferenças no potencial de digestibilidade de várias frações da planta. As frações químicas potencialmente digestíveis seriam: o conteúdo celular, a hemicelulose e a celulose desprotegidas da ação dos microrganismos pela lignina. A fração indigestível seria a hemicelulose e a celulose protegida pela lignina, sílica e cutina. Assim, o mesofilo, o floema e parte da bainha parenquimática do feixe seriam as frações anatômicas que contribuiriam em grande parte para a composição do conteúdo celular e os demais tecidos, a sílica e a cutina como

constituintes da parede celular. Os feixes vasculares e esclerênquima, por serem tecidos altamente lignificados, fariam parte da fração potencialmente indigestível.

A associação da histologia vegetal com as avaliações tradicionais do valor nutritivo concorreria para explicar as diferenças na digestibilidade entre as espécies forrageiras, evidenciando a influência da estrutura da planta sobre a quebra da partícula e degradabilidade da parede celular (Wilson, 1997).

Os resultados da proporção de tecidos dos capins gordura, sapé, jaraguá e braquiária revelaram diferenças significativas (P<0,01) entre espécie e a estação (Tabela 4).

O mesofilo foi o tecido de maior proporção em todas as espécies (Tabela 4); praticamente não houve diferença entre elas, razão pela qual esse tecido foi a única característica anatômica que não apresentou correlação significativa com as características químicas e com a DIVMS (Tabela 3).

O capim-gordura e o capim-braquiária caracterizaram-se por apresentarem maiores proporções de bainha parenquimática do feixe (BPF) e os capins sapé e jaraguá por maiores proporções de xilema e esclerênquima.

Apenas no capim-sapé, a estação teve efeito (P<0,01) sobre a proporção do feixe vascular total. O aumento percentual desse tecido foi acarretado pela elevação do percentual de xilema e floema na estação seca. Nessa estação, o capim-sapé apresentou a maior proporção de feixes vasculares (P<0,01), enquanto na estação chuvosa não houve diferença (P>0,01) entre as espécies.

O efeito da estação sobre o percentual de FVT do capim-braquiária foi inconsistente (P>0,01), mas ocorreram

Tabela 4 - Proporção de tecidos (% na seção transversal) em lâminas foliares das espécies de gramínea nas estações chuvosa e seca

Tecido	Estação	Espécie			
		Capim-gordura	Capim-sapé	Capim-jaraguá (% na seção transversal)	Capim-braquiária
Epiderme adaxial	Chuvosa	18,2Ba	12,2Ab	17,7 Aa	16,2 Aab
	Seca	24,9Aa	11,0Ac	17,0 Ab	17,7 Ab
Epiderme abaxial	Chuvosa	9,8Bab	7,9Ab	8,9Aab	10,4Aa
	Seca	11,6Aa	6,3Ab	8,6Ab	11,3Aa
Mesofilo	Chuvosa	33,5Aa	34,6Aa	32,7Aa	36,7Aa
	Seca	22,4Bb	31,4Aa	31,0Aa	32,6Aa
FVTtotal	Chuvosa	36,9Aa	39,0Ba	36,1Aa	35,4Aa
	Seca	38,9Ab	45,6Aa	37,5Ab	36,9Ab
BPF	Chuvosa	25,6Aa	14,3Ac	10,1Ad	19,8Bb
	Seca	27,9Aa	16,2Ab	11,3Ac	26,3Aa
Floema	Chuvosa	2,0Ac	2,9Bb	3,9Aa	2,5Abc
	Seca	2,0Ac	4,6Aa	3,7Ab	2,3Ac
Xilema	Chuvosa	9,4Ac	21,9Ba	22,2Aa	13,1Ab
	Seca	9,0Ab	24,8Aa	22,6Aa	8,4Bb
Esclerênquima	Chuvosa	1,5Abc	6,3Aa	4,6Bab	1,3Ac
	Seca	2,2Ab	5,7Aa	5,9Aa	1,5Ab

Valores médios para a mesma espécie seguidos pela mesma letra maiúscula não diferem ($P>0,01$) entre si pelo teste F.

Valores médios das espécies, em cada estação, seguidos de mesma letra minúscula não diferem ($P>0,01$) entre si pelo teste Tukey.

alterações inversas na proporção do xilema e da BPF, uma vez que xilema e BPF são partes integrantes do FVT.

As maiores proporções de xilema e esclerênquima são características de forrageiras de mais baixo valor nutricional (Queiroz et al., 2000). Os resultados da análise químico-bromatológica (Tabela 2) e da reação positiva com a safranina O (Figuras 1a, 1b, 1c e 1d) comprovam essa afirmativa, reforçada pelas correlações negativas ($r = -0,85$ e $r = -0,90$, respectivamente), entre esses tecidos e a digestibilidade (Tabela 3), evidenciando o caráter de barreira desses tecidos no processo de digestão. Além disso, as proporções de xilema e esclerênquima guardaram correlações positivas com os componentes da parede celular (FDN, FDA, CEL e LIG).

Assim, a diferença na DIVMS do capim-jaraguá entre as estações poderia ser atribuída à alteração na proporção de esclerênquima, enquanto no caso do capim-braquiária seria atribuída à alteração na proporção de xilema (Tabela 4).

As epidermes abaxial e adaxial e o mesofilo foram as únicas características do capim-gordura que sofreram influência ($P<0,01$) das estações (Tabela 4). A proporção da epiderme adaxial foi 37% maior na estação seca, enquanto a epiderme abaxial foi 18%. Essas alterações ocorridas nas proporções das epidermes do capim-gordura acarretaram redução significativa ($P<0,01$) na proporção do mesofilo. Além disso, essa espécie apresentou maior proporção de

epiderme adaxial (21,5%), enquanto o capim-sapé apresentou a menor proporção (11,6%).

Os capins braquiária e sapé apresentaram diferenças ($P<0,01$) nas epidermes abaxiais na estação chuvosa, porém, na estação seca, os maiores valores ($P<0,01$) foram obtidos para o capim-gordura e capim-braquiária.

A análise da coloração dos tecidos por meio da técnica quádrupla triarca revelou a presença de compostos fenólicos na superfície externa das epidermes adaxial e abaxial de todas as gramíneas (Figuras 1a). O surgimento de uma fina camada (cutícula) de coloração avermelhada comprovou a presença de cutina na superfície das folhas. A cutinização e a lignificação da parede periclinal externa da epiderme, apesar de oferecerem resistência física à planta, comprometem a colonização das partículas pelos microrganismos que fica dependentes de lesões na epiderme e das passagens representadas pelos estômatos.

Alves de Brito et al. (1999) reconheceram a importância dos estômatos como alternativa para colonização de partículas intactas no processo de digestão dos tecidos, mas minimizaram-na por considerarem que a dilaceração dos tecidos durante a ruminação expõe maior área para ação dos microrganismos e descaracteriza a barreira imposta pela cutícula.

As paredes internas da epiderme, principalmente das células buliformes, não oferecem resistência à digestão

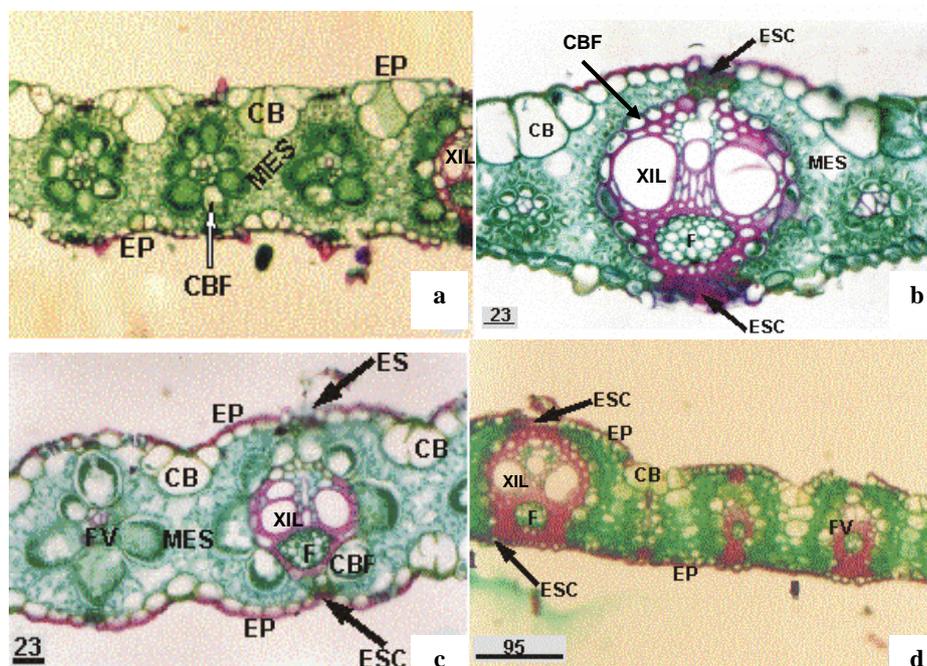


Figura 1 - Seção transversal de lâmina foliar: a - *Melinis minutiflora*; b - *Hyparrhenia rufa*; c - *Brachiaria decumbens*; d - *Imperata brasiliensis*. Abreviações: FV - feixe vascular; CB - célula buliforme; EP - epiderme; XIL - xilema; CBF - célula da bainha do feixe; F - floema; ESC - esclerênquima; MES - mesofilo. Coloração avermelhada - sítios de lignificação. Escala em micrometros (μm).

microbiana, pois a composição de sua parede celular equivale à do mesofilo (Chesson et al., 1986).

A digestão das células do mesofilo poderá ocorrer sem colonização prévia da parede celular (Akin et al., 1974), apesar de essas células em gramíneas tropicais se mostrarem densas e radialmente arranjadas. A facilidade de digestão possibilita maior fragmentação da partícula e rápida digestão dos demais tecidos (Chesson et al., 1986), mas isso só será possível se a parede celular primária das partículas apresentar-se delgada e não-lignificada, pois as alterações químicas das células podem resultar em menor taxa de digestão e interferir no desaparecimento dos demais tecidos (Lempp et al., 1998).

O tamanho e a densidade da partícula são fatores determinantes do tempo de retenção de partículas no rúmen-retículo (Lechner-Doll et al., 1991). Segundo esses autores, os feixes vasculares e o esclerênquima são os tecidos que mais contribuem para as frações de partículas grandes no rúmen e, junto com a epiderme, mantêm a integridade da folha ou do caule. Essa estrutura é responsável pela resistência da planta a danos mecânicos e químicos e é denominada estrutura de viga ("girder") (Wilson et al., 1989b). Quando ocorre o desprendimento da epiderme do restante da folha, o desdobramento da partícula torna-se rápido no sentido longitudinal.

Nesse trabalho todas as gramíneas estudadas apresentaram estrutura de viga em forma de I, que foi mais pronunciada no capim-jaraguá e no capim-sapé (Figuras 1b e 1d).

O capim-gordura e o capim-braquiária apresentaram as maiores proporções de BPF, em média, 26,8 e 23,5% respectivamente. O capim-jaraguá foi a espécie com menor proporção deste tecido, 10,5%. Essa estrutura torna-se de grande importância nutricional, pois ocupa proporção significativa na lâmina foliar, aumentando a proporção dos feixes vasculares que contém no seu interior substâncias altamente digestíveis (carboidratos e proteínas).

As diferenças na digestibilidade *in vitro* da MS em gramíneas tropicais podem estar associadas aos diferentes tipos bioquímicos de descarboxilação dos ácidos C_4 , como NAD enzima málica (NADP-ME), PEP carboxilase (PCK) e NAD enzima málica (NAD-ME) (Wilson, 1993).

Os tipos NAD-ME e PCK possuem duas bainhas ao redor do feixe vascular, a maior com células de parede espessas e a menor (mestomática) com células altamente lignificadas, enquanto o tipo NADP-ME apresenta apenas uma bainha em torno dos feixes vasculares e suas células normalmente são pequenas em seção transversal. Essas características anatômicas dos grupos contribuem para as diferenças na proporção relativa de mesofilo e feixes vasculares (Wilson & Hattlersley, 1989) e, conseqüentemente, interferem na digestibilidade da MS, em virtude do aumento de tecidos de digestão lenta (Hattlersley, 1984).

Além disso, a parede celular da bainha do feixe dos tipos NADP-ME e PCK possui uma lamela suberizada. No

tipo NAD-ME, essa lamela não se encontra suberizada, mas dentro da parede celular das células da bainha parenquimática do feixe pode apresentar densidade pronunciada de estrias, de natureza química desconhecida (Wilson, 1993), que poderá retardar a digestão. Wilson & Hattersley (1983) consideraram que essas estrias são exclusivas deste tipo bioquímico.

Os capins gordura, braquiária e sapé são representantes do tipo bioquímico PCK, enquanto o capim-jaraguá é do tipo NADP-ME. A bainha mais interna (bainha mestomática) das duas primeiras espécies reagiu positivamente à safranina O e as duas bainhas do capim-sapé apresentaram coloração avermelhada. A parede celular da BPF do capim-jaraguá apresentou coloração avermelhada em toda a extensão das células da bainha, exceto algumas vezes em que esta coloração ocorreu somente na região mais interna, porém estendendo-se um pouco para sua lateral.

Apesar das limitações na digestibilidade da BPF, foi observada correlação positiva, porém fraca com a DIVMS (Tabela 3). O fator preponderante desse resultado pode estar relacionado à natureza química da parede celular da BPF e não à sua proporção na folha.

O capim-jaraguá apresentou maior porcentagem de floema ($P < 0,01$) em relação às demais espécies na estação chuvosa e alternou essa dominância com o capim-sapé na estação seca. Paradoxalmente, o floema, um tecido de parede delgada e de fácil digestão, apresentou correlação negativa ($P < 0,001$) com a DIVMS (Tabela 3). As espécies com maiores proporções de floema foram também aquelas com maiores proporções de xilema e esclerênquima. Como não foi detectado nenhum sítio de lignificação no floema, pode-se inferir que a relação entre a DIVMS e a proporção dos tecidos foi mais influenciada pela proporção de xilema e esclerênquima, pois apresentaram correlações fortes e negativas com a DIVMS e não o floema.

Correlações negativas entre DIVMS e os componentes da parede celular foram reportadas por Wilson et al. (1983) e Queiroz et al. (2000), porém com valores inferiores aos encontrados nesse trabalho. As altas correlações encontradas nesse trabalho decorreram das características extremamente marcantes das quatro espécies estudadas. Assim como nos trabalhos desses autores, o número de observações ainda não foi suficiente para uma análise mais precisa, mas fornece um indicativo das relações entre essas variáveis.

O fato de o mesófilo não ter apresentado correlação significativa com nenhuma variável pode ser atribuído às pequenas diferenças nas proporções desses tecidos entre as espécies C_4 , como observado por outros autores.

Os baixos coeficientes de digestibilidade dos capins jaraguá e sapé estão relacionados a suas elevadas propor-

ções de XIL e ESC. De fato, os resíduos após a degradação microbiana de forrageiras contêm grandes proporções de esclerênquima e células de xilema (Akin, 1989). Wilson et al. (1989a) isolaram e incubaram partículas de xilema de gramíneas C_3 e C_4 com três semanas de idade e verificaram que essa estrutura anatômica manteve-se intacta e sugeriram que espécies que apresentam maiores densidades de feixes vasculares por folha e fibras com diâmetros grandes tendem a produzir mais resíduo após a digestão.

Além disso, esses tecidos formam uma barreira estrutural para a digestão microbiana, apesar de possuírem diferentes características de resistência.

Conclusões

O mesmo padrão de proporção de tecidos e de valores de DIVMS foi observado nos capins gordura e braquiária, assim como no capim-sapé e no capim-jaraguá. A digestibilidade *in vitro* da MS e os teores dos componentes da parede celular sofreram variação com a estação, cujo efeito sobre as características anatômicas foi inconsistente. O capim-gordura e o capim-braquiária caracterizaram-se por maiores proporções de bainha parenquimática do feixe e os capins sapé e jaraguá por maiores proporções de xilema e esclerênquima. Todas as gramíneas apresentaram estrutura de viga em forma de I, que foi mais pronunciada no capim-sapé e capim-jaraguá. A reação positiva à safranina para a presença de compostos fenólicos na parede celular ocorreu apenas nas células bainha mestomática do capim-gordura e do capim-braquiária, enquanto no capim-sapé essa reação ocorreu nas duas bainhas. A parede celular das células da bainha do capim-jaraguá apresentou coloração avermelhada, comprovando a presença de compostos fenólicos em toda sua extensão.

Os baixos coeficientes de digestibilidade foram relacionados às elevadas proporções de xilema e esclerênquima e aos teores de FDN, FDA e lignina.

Literatura Citada

- AKIN, D.E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. **Agronomy Journal**, v.81, p.17-25, 1989.
- AKIN, D.E. Perspectives of cell wall biodegradation: session synopsis. In: JUNG, H.G.; BUXTON, D.R.; HATFIELD, R.D. et al. (Eds.). **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: ASA-CSSA-SSSA, 1993. p.73-82.
- AKIN, D.E.; BURDICK, D. Microanatomical differences of warm-season grasses revealed by light and electron microscopy. **Agronomy Journal**, v.65, p.533-537, 1973.
- AKIN, D.E.; BURDICK, D.; AMOS, H.E. Comparative degradation of coastcross-1 bermudagrass, and pensacola bahiagrass by rumen microorganisms revealed by scanning electron microscopy. **Crop Science**, v.14, p.537-541, 1974.

- AKIN, D.E.; FALES, S.L.; RIGSBY, L.L. et al. Temperature effects on leaf anatomy, phenolic acids, and tissue digestibility in tall fescue. **Agronomy Journal**, v.79, p.271-275, 1987.
- AKIN, D.E.; WILSON, J.R.; WINDHAM, W.R. Site and rate of tissue digestion in leaves of C₃, C₄, and C₃/C₄ intermediate *Panicum* species. **Crop Science**, v.23, p.147-155, 1983.
- ALVES DE BRITO, C.J.F.; RODELLA, R.A.; DESCHAMPS, F.C. Anatomia quantitativa da folha e do colmo de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf. e *B. humidicola* (Rendle) Schweick. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.519-528, 2004.
- ALVES DE BRITO, C.J.F.; RODELLA, R.A.; DESCHAMPS, F.C. et al. Anatomia quantitativa e degradação *in vitro* de tecidos em cultivares de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.2, p.223-229, 1999.
- BARTON, F.E.; AMOS, H.E.; BURDICK, D. et al. Relationship of chemical analysis to *in vitro* digestibility for selected tropical and temperate grasses. **Journal of Animal Science**, v.43, n.2, p.504-512, 1976.
- BOZZOLA, J.J.; RUSSELL, L.D. **Electron microscopy: principles and techniques for biologists**. Boston: John & Bartlet Publishers, 1991. 542p.
- CHESSON, A.; STEWART, C.S.; DALGARNO, K. et al. Degradation of isolated grass mesophyll, epidermis and fibre cell walls in the rumen and cellulolytic rumen bacteria in axenic culture. **Journal of Applied Bacteriology**, v.60, p.327-336, 1986.
- ENGELS, F.M. Developments in application of light and scanning electron microscopy techniques for cell wall degradation studies. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, v.44, p.357-373, 1996.
- FORD, C.W.; MORRISON, I.M.; WILSON, J.R. Temperature effects on lignin, hemicelulose and cellulose in tropical and temperate grasses. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.30, p.621-633, 1979.
- GRABBER, J.H.; ALLINSON, D.W. Anatomical structure and digestibility of reed canarygrass cultivars and hybrid ryegrass. **Grass and Forage Science**, v.47, p.400-404, 1992.
- HAGQUIST, C.W. Preparation and care of microscope slides. **The American Biology Teacher**, v.36, p.414-17, 1974.
- HANNA, W.W.; MONSON, W.G.; BURTON, G.W. Histological examination of fresh forage leaves after *in vitro* digestion. **Crop Science**, v.13, p.98-102, 1973.
- HATTLERSLEY, P.W. Characterization of C₄ type leaf anatomy in grasses (Poaceae). Mesophyll: bundle sheath area ratios. **Annals of Botany**, v.53, p.13-179, 1984.
- Van der HEIJDEN, G.W.A.M.; van der VOOREN, J.G.; van der WIEL, C.C.M. Measuring cell wall dimensions using the distance transform. **Annals of Botany**, v.75, p.545-552, 1995.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523p.
- JUNG, H.G. Forage lignins and their effects on fiber digestibility. **Agronomy Journal**, v.81, p.33-38, 1989.
- LECHNER-DOLL, M.; KASKE, M.; ENGELHARDT, W.V. Factors affecting the mean retention time of particles in the forestomach of ruminants and camelids. In: THE INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RUMINANT PHYSIOLOGY, 7., 1991, San Diego. **Proceedings...** San Diego: 1991. p.455-482.
- LEMPP, B. **Avaliações qualitativas, químicas, biológicas e anatômicas de lâminas de *Panicum maximum* Jacq. cv. Aruana e Vencedor**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 1997. 148p. Dissertação (Doutorado em Zootecnia). Universidade Estadual Paulista, 1997.
- LEMPP, B.; EZEQUIEL, J.M.B.; SANTOS, J.M. et al. Observação da taxa de digestão das células de mesofilo de duas cultivares de *Panicum maximum* jack, águas e seca. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: 1998. p.269-271.
- MINSON, D.J. **Forage in ruminant nutrition**. San Diego: Academic Press, 1990. 483p.
- PACIULLO, D.S.C. Características anatômicas relacionadas ao valor nutritivo de gramíneas forrageiras. **Ciência Rural**, v.32, n.2, p.357-364, 2002.
- PACIULLO, D.S.C.; GOMIDE, J.A.; SILVA, E.A.M. et al. Características anatômicas da lâmina foliar e do colmo de gramíneas forrageiras tropicais, em função do nível de inserção no perfilho, da idade e da estação de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.890-899, 2002.
- 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. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.1, p.61-68, 2000.
- REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A. **Valor nutritivo de plantas forrageiras**. Jaboticabal: UNESP/FUNEP, 1993. 26p.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **SAS/STAT user's guide**. Version 6, 4.ed. Cary: 1990. v.1, 943p.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.
- MANNETJE, L. **Measurement of grassland vegetation and animal production**. Aberystwyth: CAB, 1978. 260p. (Bulletin, 52).
- TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of British Grassland Society**, v.18, n.2, p.104-111, 1963.
- TRAVIS, A.J.; MURISON, S.D.; PERRY, P. et al. Measurement of cell wall volume using confocal microscopy and its application to studies of forage degradation. **Annals of Botany**, v.80, p.1-11, 1997.
- WILKINS, R.J. The potential digestibility of cellulose in grasses and its relationship with chemical and anatomical parameters. **Journal of Agricultural Science**, v.78, p.457-464, 1972.
- WILSON, J.R. Organization of forage plant tissues. In: JUNG, H.G., BUXTON, D.R.; HATFIELD, R.D.; RALPH, J. (Eds.). **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: ASA-CSSA-SSSA, 1993. p.1-32.
- WILSON, J.R. Structural and anatomical traits of forages influencing their nutritive value for ruminants. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO, 1997, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1997. p.173-208.
- WILSON, J.R.; AKIN, D.E.; McLEOD, M.N. et al. Particle size reduction of 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 Science**, v.44, p.65-75, 1989a.
- WILSON, J.R.; McLEOD, M.N.; MINSON, D.J. Particle size reduction of leaves of a tropical and temperate grass by cattle. I. Effect of chewing during eating and varying times of digestion. **Grass and Forage Science**, v.44, p.55-63, 1989b.
- WILSON, J.R.; BROWN, R.H.; WINDHAM, W.R. Influence of leaf anatomy on the dry matter digestibility of C₃, C₄, and C₃/C₄ intermediate types of *Panicum* species. **Crop Science**, v.23, p.141-146, 1983.
- WILSON, J.R.; HATTERSLEY, P.W. Anatomical characteristics and digestibility of leaves of *Panicum* and other grass Genera with C₃ and different types of C₄ photosynthetic pathway. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.40, p.125-136, 1989.
- WILSON, J.R.; HATTERSLEY, P.W. *In vitro* digestion of bundle sheath cell in rumen fluid and its relation to the suberized lamella and C₄ photosynthetic type in *Panicum* species. **Crop Science**, v.38, p.219-223, 1983.
- WILSON, J.R.; MERTENS, D.R. Cell wall accessibility and cell structure limitations microbial digestion of forage. **Crop Science**, v.35, p.251-259, 1995.