

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

DOMINGOS SÁVIO CAMPOS PACIULLO¹, JOSÉ ALBERTO GOMIDE², DOMINGOS SÁVIO QUEIROZ³

¹ Bolsista de Recém-Doutor - EMBRAPA Gado de Leite - Rua Eugênio do Nascimento, 610, Dom Bosco. Juiz de Fora-MG.

² Pesquisador IA do CNPq - Departamento de Zootecnia, Campus UFV. Viçosa-MG.

³ Pesquisador da EPAMIG - Campus UFV. Viçosa-MG

RESUMO: Avaliaram-se os efeitos de duas idades (momento da exposição da lígula e 20 dias após) sobre o potencial de digestão dos tecidos de lâminas foliares e de segmentos de colmo de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*), capim-gordura (*Melinis minutiflora*) e capim Tifton 85 (*Cynodon sp.*). Por meio de observações ao microscópio foi estimada a digestão *in vitro* dos tecidos e determinada a redução da espessura da parede de células do esclerênquima, em seções transversais previamente incubadas em líquido ruminal. Lâminas foliares e colmos jovens apresentaram maiores áreas digeridas. Permaneceram intactos o esclerênquima (ESC), a bainha parenquimática dos feixes (BPF), o xilema (XIL) e a epiderme (EPI) do colmo, tecidos com células de parede espessada e lignificada, enquanto o mesofilo (MES), o floema (FLO) e o parênquima (PAR), com células de parede delgada, desapareceram completamente. O avanço da idade reduziu a digestão do mesofilo e do parênquima. Embora aparentemente íntegras, 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 7 a 18 nm/h. O avanço da idade não concorreu para diminuir a taxa de redução da parede celular.

PALAVRAS-CHAVE: anatomia , espessura da parede celular , degradação de tecidos , digestão da parede celular, estágio de desenvolvimento

(The authors are responsible for the quality and contents of the title, abstract and keywords)

TISSUE DIGESTION OF LEAF BLADES AND STEM SEGMENTS FROM TROPICAL FORAGE GRASSES

ABSTRACT: The effect of two ages (day of ligule exposure and 20 days thereafter) on the potential digestion of tissue were evaluated in leaf blades and stem segments from signalgrass (*Brachiaria decumbens*), molassesgrass (*Melinis minutiflora*) and tifton 85 bermudagrass (*Cynodon sp.*). After incubation in ruminal fluid, transversal sections were observed on microscope to estimate tissue digestion and to measure reduction on sclerenchyma cell wall thickness. A greater digestion were detect in young leaf blades and stems. The tissues that had thick and lignified cell wall (parenchyma bundle sheath, sclerenchyma, xylem and stems epidermis) remained intact after incubation, while the tissues that had thin cell wall (mesophyll, phloem and parenqchyma) were completely digested. The development reduced the mesophyll and parenchyma disapperance. The thickness of sclerenchyma cell wall was reduced after incubation in rumen fluid, although the tissue appeared to be indigestible when observed on the microscope. The percentage of reduction varied from 7 to 37% and the rate of thickness reduction from 7 to 18 nm/h. The maturity did not affect the rate of thickness reduction.

KEY WORDS: anatomy, cell wall thickness , tissue degradation, cell wall digestion , stage of development

INTRODUÇÃO

Os tecidos vegetais apresentam potenciais de digestão diferenciados, do que decorre a associação entre a proporção de tecidos e o valor nutritivo de gramíneas forrageiras (QUEIROZ et al., 2000). Em geral, as células do mesofilo e as do floema são rapidamente digeridas, enquanto as células da epiderme e da bainha parenquimática dos feixes apresentam digestão lenta e parcial. Tecidos como o esclerênquima e o xilema, de parede celular espessa e lignificada, são muito pouco digeridos. No colmo, apenas o parênquima, em

estádio 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). 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 redução de sua espessura em seções de gramíneas incubadas em líquido ruminal (WILSON et al., 1991). As taxas de digestão têm variado de 15 a 20 nm/hora.

O objetivo deste trabalho foi estimar o efeito da idade sobre a digestão *in vitro* dos diferentes tecidos de três gramíneas forrageiras, bem como avaliar a espessura da parede de células do esclerênquima antes e após a incubação em líquido ruminal.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido nas dependências do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. De perfilhos previamente marcados das gramíneas capim Braquiária (*Brachiaria decumbens*), capim Gordura (*Melinis minutiflora*) e capim Tifton 85 (*Cynodon* sp.), foram amostradas folhas no momento da exposição da lígula (idade 0) e 20 dias após. Os segmentos de colmo amostrados foram os situados imediatamente abaixo da folha colhida. Após colhidos, os perfilhos foram dissecados em lâmina e segmento de colmo. 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 0,1 mm. Três seções de cada segmento foram montadas em fita adesiva de face dupla, previamente aderida à lâmina de microscópio. 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 montado em lâminas de microscópio com fita adesiva de face dupla, porém não foi incubado em líquido ruminal. Estas seções foram imediatamente levadas ao microscópio acoplado ao sistema analisador de imagens *Image Pro Plus*, 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.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

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. 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 de MES após incubação por 72 h. Por meio de testes histoquímicos, os autores detectaram, em algumas regiões do mesófilo, a presença de compostos fenólicos. 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, foram completamente digeridos. A EPI sofreu digestão parcial e o XIL, a BPF e o ESC, permaneceram intactos.

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. Em colmos maduros, a EPI, o ESC, o XIL, além das células de PAR próximas ao ESC, permaneceram não digeridas. 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, 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. Por outro lado, apesar deste tecido manter sua integridade após incubação, observou-se, por meio de medições (Tabela 1), redução da espessura da parede secundária, com taxas variando de 7 a 18 nm/h. 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 10 nm/h para 18 nm/h em capim-gordura, com o avanço da idade. Assim, a deposição de lignina na parede secundária, com o desenvolvimento do colmo, parece não ter influído na taxa de digestão. Relatos da literatura mostram que a parede secundária lignificada sofre diferente grau de digestão (WILSON et al., 1991).

Com a maior taxa de digestão (18 nm/h) e o tempo de incubação de 46 h, estima-se que a máxima redução da parede celular foi de 830 nm, ainda assim, inferior à menor espessura observada (1270 nm) (Tabela 1). Assim, mesmo na ausência da lignificação, como em colmos jovens, 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 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.

CONCLUSÕES

As células do mesofilo, do parênquima e do floema foram as únicas a sofrerem completa digestão *in vitro*.

A idade reduziu a digestão das células do mesofilo e do parênquima.

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.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- 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.
- 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, 2000.
- 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., 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., 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.

TABELA 1 - 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 (nm)		Redução na espessura (%)	Taxa de digestão (nm/h)	Espessura da parede (nm)		Redução na espessura (%)	Taxa de digestão (nm/h)
	NI*	I ⁺			NI	I		
Braquiária	1330	1000	24,8	7	4880	4540	7,0	7
Gordura	1270	800	37,0	10	2620	1790	31,7	18
Tifton 85	1490	930	37,6	12	3580	3130	12,6	10

* NI – não-incubado.

⁺ I – incubado.