

Atributos Anatômicos de Lâminas Foliares de *Paspalum* spp.

Gisele Catian¹, Beatriz Lempp², Luiz Alberto Rocha Batista³, Ana Cristina Ceolin⁴, Roberta Alves Gomes⁴, Elda Barrios de Azambuja Silva⁵, Maria da Graça Moraes⁶.

Introdução

A qualidade de plantas forrageiras determina o desempenho animal em gramíneas tropicais quando não ocorre limitação de forragem em oferta. Os animais sob pastejo são seletivos, colhendo preferencialmente lâminas foliares, as quais diferem em qualidade entre os genótipos devido ao grupo anatômico a que pertencem.

Os fatores que interferem na qualidade das gramíneas forrageiras podem ser de origem anatômica, física e química, além daqueles relacionados à estrutura da vegetação [1].

Os tecidos mais digestíveis são as células do mesófilo (MES) que contêm alto teor de proteína bruta no conteúdo celular e carboidratos digestíveis na parede, podendo ser degradados por enzimas extracelulares, pois apresentam somente a parede celular primária, com espessura de 0,1 a 0,2 µm e não são lignificáveis [2]. Já as da bainha parenquimática dos feixes vasculares (BPF), cujas células possuem alto teor de proteína e amido em seu conteúdo e pode estar associadas à lignina, como também as da epiderme (EPI) são as mais resistentes à degradação, requerendo inicialmente o ataque físico [3]. Van Soest [4] considerou que a lignina é o primeiro fator que limita a degradabilidade da parede celular de forrageiras.

As diferenças de origem anatômica entre as lâminas de gramíneas tropicais que interferem no desempenho animal, também estão relacionadas ao arranjo dos diferentes tecidos, à localização de esclerênquima (ESC), à espessura da parede da BPF e da proporção de tecidos indigestíveis na seção transversal.

A proporção de ESC ao longo da seção transversal geralmente é baixa. Entretanto, Wilson *et al.* [5] observaram arranjo de células de ESC entre as células da EPI e as da BPF, formando a estrutura girder. Esta estrutura girder pode ter efeito direto na resistência que as lâminas oferecem à digestão, interferindo na taxa de degradação dos tecidos.

O objetivo do trabalho foi caracterizar lâminas foliares de *Paspalum* spp. quanto aos atributos anatômicos associados ao potencial qualitativo.

Material e métodos

O ensaio foi implantado em casa de vegetação nas dependências da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados. O delineamento experimental foi de blocos casualizados, com oito genótipos e quatro repetições. Os genótipos avaliados foram: P30 (*Paspalum malacophyllum* Trinius), P114 (*P. glaucescens* Hackel), P65 (*P. guenoarum* Arech), P14 (*P. guenoarum* Arech), P116 (*P. atratum* Swallen), P127 (*P. plicatulum* Michaux), P19 (*P. regnellii* Mez) e uma cultivar comercial P96 (*P. atratum* cv. Pojuca). Estes genótipos foram cedidos pela Embrapa Pecuária Sudeste, os quais compõem a Rede Nacional de Avaliação de *Paspalum* spp. para desenvolvimento e obtenção de novas cultivares.

A semeadura foi realizada em 15/02/06 e o desbaste visando obter três plantas/vaso foi efetuado 15 dias após a germinação. Para as avaliações anatômicas amostrou-se um fragmento da penúltima lâmina expandida do perfilho principal de cada uma das três plantas por vaso (repetição). Foram realizadas duas amostragens de lâminas aos 35 dias de crescimento.

No processo de preparo histológico as amostras dos fragmentos de lâminas da forragem foram acondicionadas em FAA (Formalina-Acetato-Álcool), desidratados, incluídos em paraplast e seccionados a 10 µm em micrótomo rotativo, efetuando-se a coloração quádrupla triarca dos tecidos [6]. A reação positiva com a safranina 0 foi atribuída à presença de compostos fenólicos e, também, quando positiva na epiderme abaxial e adaxial, à presença de cutícula e/ou lignina.

A mensuração dos tecidos foi feita por meio de sistema analisador de imagens acoplado ao microscópio óptico. Para a verificação das áreas dos tecidos, foi mensurada toda a área da seção transversal projetada no vídeo e, em seguida, a área dos tecidos: epidermes abaxial (EPIaba) e adaxial (EPIada), bainha parenquimática dos feixes (BPF), esclerênquima (ESC) e tecido vascular (TV). O mesófilo (MES) foi calculado por diferença.

Nas análises estatísticas as médias obtidas para a proporção relativa dos tecidos nos cortes um e dois foram

1. Aluna da Biologia, Bolsista de Iniciação Científica - PIBIC/CNPq - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, Brasil, CEP 79840-000. E-mail: gcatian@gmail.com

2. Professora Associada I da Faculdade de Ciências Agrárias - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, Brasil, CEP 79840-000. E-mail: blempp@ufgd.edu.br

3. Pesquisador da Área de Forragicultura - Embrapa Pecuária Sudeste, Campo Grande, MS, CEP 79002-970. E-mail: ibatista@cnpse.embrapa.br

4. Alunas da Pós-graduação em Agronomia: Produção Vegetal - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, Brasil, CEP 79840-000.

5. Técnica em laboratório - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, Brasil, CEP 79840-000.

6. Professora Associada I da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil, CEP 79070-

Apoio financeiro: UNIPASTO e CNPq.

comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Utilizou-se o procedimento do SAS [7].

Resultados e Discussão

A EPI representou 45,1% da seção transversal das lâminas, à exceção de P114 e P116 (Tabela 1) EPI. Esta alta proporção de EPI, principalmente no genótipo P116 (54,6%), pode interferir no potencial qualitativo da forragem. Tendo em vista que estas células podem apresentar lignina, sílica e tanino.

Harbers *et al.* [8] citaram que, além da lignina presente na parede celular da EPI, a cutícula que contém sílica confere rigidez e impede a digestão pelos microrganismos do rúmen e a cutícula *per se* pode ser um inibidor estrutural da digestão. O arranjo das células da EPI, sinuosidade da parede e a distribuição de sílica no tecido podem interferir na taxa de degradação das lâminas. A sílica pode estar associada à estrutura girder, epiderme *stigmata* ou distribuída entre dois feixes vasculares. Neste último caso interferindo menos na fragilidade digestiva das lâminas no rúmen. Porém, futuras avaliações do arranjo das células de EPI quanto à sinuosidade da parede celular e localização da sílica são necessárias em lâminas de *Paspalum* spp.

Os genótipos P127, P14, P19, P30, P96 apresentaram tanino na EPI, sendo que em P127 este se apresentou altamente condensado (Figura 1). De maneira geral, os teores de tanino em gramíneas são baixos. Mas Chesselet *et al.* [9] observaram, por meio de testes histoquímicos, tanino na EPI de gramíneas do Sul da África. Neste sentido, torna-se necessário efetuar análise quantitativa dos compostos fenólicos nas lâminas foliares para se verificar se o teor de tanino pode interferir no potencial qualitativo das lâminas de *Paspalum* spp.

A proporção de BPF na seção transversal dos genótipos foi baixa em relação a outras gramíneas tropicais como *Panicum maximum* e *Brachiaria* spp., principalmente P116, P14 e P96, média de 12,3%. As células da BPF, pela função que exercem nas C₄, são ricas em enzimas e carboidratos solúveis e menor proporção destas pode resultar em baixos teores de proteína na forragem. Wilson [10] citou que em torno de 50% da proteína nas lâminas de gramíneas tropicais encontram-se na BPF.

As células de MES também apresentam alto teor de enzimas, assim a baixa proporção de BPF pode ser compensada, em parte, por alta de MES. As células de MES são mais digestíveis que as da BPF por apresentarem somente uma parede celular e não serem passíveis de lignificação [2]. Hanna *et al.* [11] e Akin *et al.* [12] observaram ao microscópio que as bactérias do rúmen digerem inicialmente as células de mesófilo.

Já a parede das células da BPF é espessa, contendo alto teor de carboidratos estruturais que podem estar associados à lignina. Portanto, a degradação destas células no rúmen pode depender do teor de lignina na parede, além da acessibilidade pela microbiota do rúmen. A alta taxa de degradação da BPF pode compensar a baixa proporção na seção transversal.

Akin & Rigsby [3], demonstraram que para a digestão da BPF inicialmente ocorre ataque físico (erosão). A lenta taxa de digestão destas células poderá resultar em baixa gravidade específica das partículas no rúmen, com retenção de gases [5], interferindo dessa forma no tempo de retenção de partículas no rúmen.

Assim, com relação aos tecidos com alto teor de carboidratos e proteína, destacou-se o genótipo P114, que em comparação aos demais, apresentou baixa proporção de EPI, sem tanino condensado, e alta proporção de BPF e MES, além da baixa relação MES/BPF. Mas, por outro lado, observou-se alta proporção de ESC e TV.

O TV é constituído por células de xilema (XIL) e floema (FLO). Neste estudo também se incluíram as células da bainha de mestoma (BM). As células de XIL compreendem a maior proporção do TV e são 100% indigestíveis [13]. No entanto não interferem na degradabilidade de outros tecidos, além de serem altamente correlacionados ao acúmulo de massa de forragem, o que pode indicar que o genótipo P114 possua atributos agrônômicos desejáveis.

Já as células de ESC, além de serem indigestíveis, podem afetar a fragilidade digestiva das lâminas foliares quando estas estiverem localizadas entre as células de BPF e EPI, estrutura girder. Wilson *et al.* [5], verificaram que a estrutura girder pode ter efeito direto na resistência que as lâminas oferecem à degradação, influenciando no tempo de retenção das partículas no rúmen.

Neste estudo, necessita-se verificar a localização das células de ESC, principalmente nos genótipos P114, P19, P30 e P65 que apresentaram alta proporção deste tecido (média de 2,8%). Por exemplo, se estes genótipos apresentarem alta frequência de estrutura girder I, a taxa de degradação dos tecidos no rúmen será lenta, interferindo negativamente no consumo.

Os fatores estruturais da forragem, de origem anatômica, relacionados à qualidade de lâminas foliares são vários, impossibilitando que características individuais, como a proporção de tecidos altamente digestíveis, *i.e.* MES, possa distinguir os genótipos de maior valor nutricional. Da mesma forma, a composição química, pois no processamento das amostras, moagem, elimina-se o efeito da resistência física dos constituintes da parede celular. A digestibilidade da parede celular de gramíneas pode variar de 30 a 60%, enquanto dos diferentes tecidos das lâminas foliares de 0 a 100% [10].

As avaliações anatômicas de fragmentos de lâminas foliares de *Paspalum* spp. indicaram importantes diferenças entre os genótipos quanto à proporção de tecidos. No entanto, diferenças no potencial qualitativo entre os genótipos só poderão ser conclusivas com o estudo do arranjo dos tecidos, *i.e.* estrutura girder e epiderme *stigmata*.

Agradecimentos

À Embrapa Pecuária Sudeste pelos genótipos cedidos. Ao CNPq e UNIPASTO pelo apoio financeiro.

Referências

- [1] LEMPP, B. & MORAIS, M.G. 2005. Qualidade de Plantas Forrageiras. In: Anais do ZOOTEC: Produção Animal e Responsabilidade, 24 a 27 de Maio. Campo Grande. MS, 19p.
- [2] CHENG K.J.; FAY, J.P.; HOWARTH, R.E. 1980. Sequence of events in the digestion of fresh legume leaves by rumen bacteria. *Applied Environment Microbiology*, n. 40, p. 613-625.
- [3] AKIN, D.E. & RIGSBY, L.L. 1985. Degradation of bermuda and orchardgrass by species of ruminal bacteria. *Applied Environment Microbiology*, n. 50, p. 825-830.
- [4] VAN SOEST, P.J. 1982. *Nutritional ecology of the ruminant*; Ithaca: Cornell University Press, 373p.
- [5] WILSON, J.R.; McLEOD, M.N.; MINSON, D.J. 1989. Particle size of the leaves of a tropical and temperate grass by cattle. II. Effect of chewing during eating and varying times of digestion. *Grass and Forage Science*, n. 44, p. 55-63.
- [6] HAGQUIST, C. W. 1974. Preparation and care of microscope slides. *Annary Biology Teacher*, v. 36, p. 414-417.
- [7] SAS. 1988. *SAS User's guide: Statistics*. 5ª Ed., Cary: SAS Institute, 956p.
- [8] HARBERS, L.H.; BRAZLE, F.K.; RANTEN, D.J. 1981. Microbial degradation of smooth brome and tall fescue observed by scanning electron microscopy. *Journal of Animal Science*, n. 51, p. 439-446.
- [9] CHESSELET, P.; WOLFSON, M. M.; ELLIS, R. P. 1992. A comparative histochemical study of plant polyphenols in Southern African grasses. *Journal Grassland Society Southern African*, n. 9, p. 119-123.
- [10] WILSON, J.R. 1993. Organization of forage plant tissues. In: JUNG, H.G., BUXTON, D.R. HATFIELD, R.D. (Eds.). *Forage cell wall structure and digestibility*; Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, p.1-27.
- [11] HANNA, W.W.; MONSON, W.G.; BURTON, G.W. 1973. Histological examination of fresh leaves after in vitro digestion. *Crop Science*, Madison, n. 13, p. 98-102.
- [12] AKIN, D.E.; AMOS, H.E. ; BARTON, F.E. 1973. Rumen microbial degradation of grass tissue revealed by scanning electron microscopy. *Agronomy Journal*, n. 65, p. 825-828.
- [13] AKIN, D.E. 1989. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. *Agronomy Journal*, n. 8, p. 117-125.

Tabela 1. Proporção relativa de tecidos (%) na seção transversal de fragmentos de lâminas foliares de *Paspalum* spp.

	EPI ¹	BPF ²	TV ³	ESC ⁴	ESC+ TV	MES ⁵	MES/ BPF	
Genótipos	P114	29,4 ^c	21,0 ^a	6,0 ^a	3,5 ^a	9,5 ^a	40,1 ^a	2,0 ^c
	P116	54,6 ^a	11,2 ^c	3,5 ^b	1,4 ^b	4,9 ^{bc}	28,7 ^c	2,7 ^{ab}
	P127	48,9 ^{ab}	13,6 ^b	3,2 ^b	2,2 ^b	5,4 ^{bc}	31,3 ^{bc}	2,4 ^b
	P14	48,1 ^{ab}	12,8 ^{bc}	2,8 ^{bc}	2,2 ^b	5,0 ^{bc}	34,1 ^b	2,7 ^{ab}
	P19	39,0 ^b	16,6 ^b	3,7 ^b	2,4 ^{ab}	6,1 ^{bc}	38,3 ^a	2,4 ^{ab}
	P30	44,4 ^b	13,8 ^b	2,5 ^c	2,6 ^a	5,1 ^{bc}	36,7 ^a	2,7 ^{ab}
	P65	44,0 ^b	14,9 ^b	3,7 ^b	2,7 ^a	6,5 ^b	34,7 ^b	2,5 ^{ab}
	P96	46,1 ^b	12,8 ^{bc}	3,3 ^{bc}	1,4 ^b	4,7 ^c	36,0 ^a	2,9 ^a
	CV% ⁶	6,8	8,1	9,3	21,1	11,8	5,8	10,9

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey a 5%. ¹Epiderme, ²bainha parenquimática dos feixes, ³tecido vascular, ⁴esclerênquima, ⁵mesofilo, ⁶coeficiente de variação.

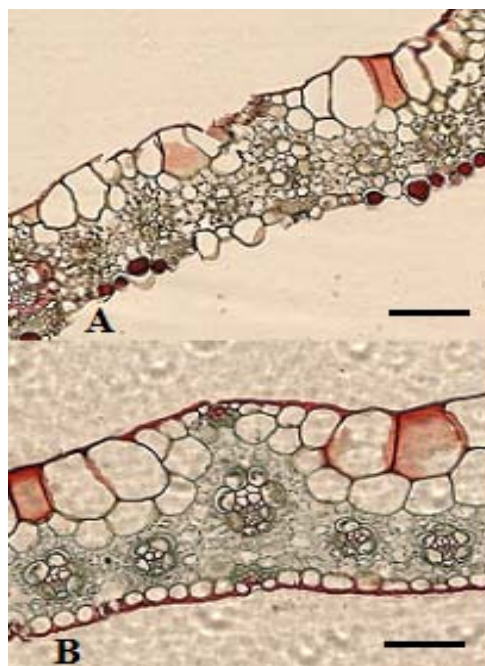


Figura 1. Seção transversal de fragmentos de lâminas foliares de *Paspalum* spp. A. Genótipo P127 (— 5 µm). B. Genótipo P96 (— 3 µm).