

EUSTÁQUIO FILHO, A., SANTOS, P.E.F. e SILVA, M.W.R. Inter relações entre anatomia vegetal e degradação ruminal de plantas forrageiras. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 1, Ed. 106, Art. 712, 2010.



PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.

Inter relações entre anatomia vegetal e degradação ruminal de plantas forrageiras

Antônio Eustáquio Filho⁽¹⁾; Paulo Eduardo Ferreira dos Santos⁽¹⁾ e Marcos Welber Ribeiro da Silva^(1,2)

⁽¹⁾Doutorando do programa de pós-graduação da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB - Itapetinga, BA.

E-mail: eustaquiofilho.a@zootecnista.com.br, pauloeduardo@zootecnista.com.br

⁽²⁾Zootecnista, Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola – EBDA – Itambé, BA. E-mail: maweris@hotmail.com

RESUMO

A anatomia vegetal tem se constituído em uma ferramenta complementar de grande relevância para os estudos de avaliação da qualidade das forragens. Indicadores gerados pela técnica permitem tanto a comparação de espécies ou cultivares, como o acompanhamento do envelhecimento dos tecidos com a maturidade da planta. Em ruminantes, a taxa de degradação da parede celular das forragens é determinada, em grande parte, pela capacidade da biota ruminal em transpor barreiras anatômicas. Desse modo, a quantificação dos tecidos presentes nas forrageiras pode auxiliar a compreender melhor a qualidade nutricional da forragem. Portanto, objetiva-se com esta revisão demonstrar a importância de se agregar os conhecimentos relacionados à

anatomia das plantas e degradação ruminal às avaliações do valor nutritivo das forrageiras.

Palavras-chave: Forragem, morfologia vegetal, rúmen.

Interrelations between vegetable anatomy and ruminal degradation of forage plants

ABSTRACT

The plant anatomy has been constituted as a complementary tool of great importance for studies assessing the quality of fodder. Indicators generated by the technique allow as the comparison of species or cultivars, so monitoring the aging of tissues with the maturity of the plant. In ruminants, the rate of degradation of cell walls of forages is determined largely by the ability of ruminal biota cross anatomical barriers. Thus, the quantification of tissue present in forages can help to better understand the nutritional quality of forage. Therefore, the objective with this review demonstrate the importance of adding the knowledge related to the anatomy of plants and ruminal degradation assessments of the nutritional value of forages.

Keywords: Forage, vegetable morphology, rumen.

1. INTRODUÇÃO

A anatomia vegetal tem se constituído em uma ferramenta complementar de grande relevância para os estudos de avaliação da qualidade das forrageiras. Indicadores gerados pela técnica permitem tanto a comparação de espécies ou cultivares, como o acompanhamento do envelhecimento dos tecidos com a maturidade da planta.

Com a utilização da microscopia eletrônica de varredura, foi possível observar que a biota ruminal digere vários tipos de tecido das forrageiras, sendo o tecido vascular lignificado o mais resistente a digestão (ALVES DE BRITO et al., 1999). No mesmo estudo, os autores descrevem que a degradação dos tecidos obedece a seguinte ordem decrescente: tecido

parenquimático > floema > epiderme > bainha parenquimática > xilema e esclerênquima.

Em ruminantes, a taxa de degradação da parede celular das forragens é determinada, em grande parte, pela capacidade da biota ruminal em transpor barreiras anatômicas. Desse modo, a quantificação dos tecidos presentes nas forrageiras pode auxiliar a compreender melhor a qualidade nutricional da forragem (ALVES DE BRITO et al., 1999). A capacidade de consumo dos ruminantes está associada à forrageira fornecida aos animais. Nesse caso, o consumo pode diminuir com o incremento da maturidade da planta e pela redução da qualidade nutricional de seus tecidos.

Pesquisadores das áreas de nutrição animal e de forragicultura têm procurado características inerentes às plantas forrageiras que possam expressar o verdadeiro valor de um alimento para os ruminantes. Algumas definições estabelecidas no final da década de 60 ainda são amplamente utilizadas na avaliação do valor nutritivo, pois nenhum avanço significativo foi observado desde aquela época (REID, 1994). Estudos avaliando a influência da anatomia de gramíneas forrageiras sobre seu valor nutritivo têm sido desenvolvidos nas últimas três décadas.

Avanços nesta área foram possíveis graças à novas técnicas utilizadas em microscopia ótica e eletrônica. Esses estudos estabeleceram diferenças no potencial de digestão dos diferentes tecidos, possibilitando a associação entre a proporção de tecidos nos órgãos de espécies forrageiras e o valor nutritivo. De fato, foram demonstradas correlações significativas entre a proporção de tecidos, determinada em seções transversais de lâminas foliares e colmos de gramíneas e algumas entidades nutritivas (proteína bruta, fibra em detergente neutro, digestibilidade *in vitro* da matéria seca).

Recentemente, trabalhos têm evidenciado que a baixa digestão de alguns tecidos pode estar mais relacionada a aspectos físicos dos tecidos, destacando-se a elevada espessura da parede celular, do que as características químicas, como os teores de lignina.

Portanto, objetiva-se com esta revisão demonstrar a importância de se agregar os conhecimentos relacionados à anatomia das plantas e degradação ruminal às avaliações do valor nutritivo das forrageiras.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. ANATOMIA DAS GRAMÍNEAS

As gramíneas são constituídas por um conjunto de órgãos (inflorescência, folha, colmo e raiz), cada um formado por tecidos. Estes, 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; tecido de suporte ou sustentação (esclerênquima), que, em folhas de gramíneas, está freqüentemente associado aos feixes vasculares e ao 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.

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. IMPORTÂNCIA DA ANATOMIA VEGETAL

A qualidade das forragens está diretamente ligada às características da organização estrutural. Os microrganismos que habitam o rúmen de alguns animais herbívoros possuem a capacidade de digerir a celulose e não a lignina. Como a estrutura do vegetal contém tanto celulose como lignina, diferenças na proporção de tecidos com lignina certamente influenciam na qualidade das forragens (ALVES DE BRITO & RODELLA, 2001).

Outra relação importante com a organização estrutural está na nutrição do vegetal. Evidentemente, a nutrição mineral contribui com a composição da organização estrutural, ou seja, quando a planta recebe ou deixa de receber macro e micronutrientes evidenciam-se alterações em sua estrutura. A nutrição mineral, por sua vez, pode ter efeito secundário sobre a resistência de plantas ao ataque de pragas e doenças, ou seja, quando os efeitos da nutrição se realizam nas características físicas que possibilitam mais resistência (MARSCHNER 1995).

Além dos nutrientes minerais outras características como as condições do solo, da água, da luz, da temperatura, exercem influência sobre as características estruturais do vegetal. Por exemplo, plantas do mediterrâneo são submetidas a estresse de seca e calor durante o verão. Essas condições influenciam no desenvolvimento e produtividade das plantas cultivadas. Muitas plantas dessa região, por mutações, adquiriram mecanismos morfológicos e fisiológicos que possibilitaram sua sobrevivência. Esses mecanismos compreendem, na folha, principalmente, a redução do tamanho, capacidade de enrolamento, alta densidade de tricomas, estômatos profundos, acúmulo de mucilagem, metabólitos secundários e aumento da compactação do mesofilo (BOSABALIDIS & KOFIDIS 2002).

Situação que demonstra a importância da existência de descrições da organização estrutural ou anatomicas das plantas está na técnica de microhistologia que permite identificar a composição botânica da dieta de herbívoros a partir de amostras de fezes, material ruminal e fístulas esofágicas (LOPES-TRUJILLO & GARCIA- ELIZONDO, 1995).

Os aspectos histológicos são utilizados na identificação das plantas presentes nessas amostras, tais como tamanho e forma dos tricomas, presença e ausência dos mesmos, ocorrência e posição das células suberosas e células silicosas a organização das células epidérmicas, orientação das nervuras, tipos de estômatos e inclusão de cristais. Para a realização dessa análise é necessária a existência de material de referência contendo os padrões anatômicos das espécies, principalmente, da epiderme da folha.

Os estômatos são estruturas importantes para a Produção Vegetal, pois representa a porta de entrada e escoamento dos gases para a fotossíntese, processo primordial relacionado à produtividade vegetal, além de serem também porta de entrada para microrganismos. As diferentes espécies de plantas variam quanto ao número, frequência, tamanho, distribuição, forma e a mobilidade dos estômatos, o que conseqüentemente interfere na capacidade fotossintética destas. Mesmo em uma única planta, as folhas variam relativamente quanto aos estômatos, dependendo de sua forma e posição no ramo. Além disso, o comportamento dos estômatos tem relação direta com as condições abióticas (LARCHER, 1986).

As relações entre os tecidos comumente lignificados e a deposição interna de lignina com a produção vegetal expressam-se principalmente nas áreas da Fitopatologia e da Forragicultura.

A lignina é considerada substância resistente aos patógenos, pois dificulta sua colonização. Porém, isso não inviabiliza o acesso dos patógenos ao interior das plantas. Assim, as plantas tentam se defender dos invasores com a formação de novas barreiras estruturais, como a deposição de lignina e outras substâncias (AGRIOS, 1997). Já para a Forragicultura a lignina é considerada um empecilho à degradação pelos microrganismos que habitam o rúmen.

Tecidos parenquimáticos podem exibir resistência aos patógenos, mesmo sem apresentar lignificação. A resistência nesse caso é atribuída à organização e às características das células. Diferentes tratos culturais utilizados na produção vegetal provocam alterações na organização estrutural dos vegetais, incluindo os parênquimas.

2.3. INFLUÊNCIA DA LIGNINA NA DEGRADAÇÃO RUMINAL

Dos componentes químicos associados à parede celular, a lignina é aquele que, reconhecidamente, limita a digestão dos polissacarídeos da parede celular no rúmen (JUNG & DEETZ, 1993). Em geral, a lignina possui três álcoois aromáticos: álcool coniferil (que predomina nas espécies arbóreas), álcool sinapil e álcool pcoumaril (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 & 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-cumárico e ferúlico (e seus dímeros) depositados na parede celular durante sua formação. Esses ácidos podem estar ligados à lignina “core”, aos polissacarídeos ou a ambos, simultaneamente (JUNG, 1989).

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 & 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 ligninapolissacarídeo, 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 1mM, 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 & 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 & MERTENS, 1995), o que pode causar toxicidade aos microrganismos ruminais. A extensão desta inibição parece pouco significativa (JUNG & 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-fenilpropiónico (CHESSON et al., 1982, citados por MARVIN et al., 1996).

De acordo com Jung & Deetz (1993), não existe evidência direta que suporte a hipótese de limitação da digestão pela hidrofobicidade causada pela lignificação da parede celular. Segundo esses 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 & DEETZ, 1993). Essas 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.

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 horas de incubação em fluido ruminal.

Outros resultados confirmaram a digestibilidade variável 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 & 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 espessura da parede secundária (PACIULLO, 2000).

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 & 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. Chesson et al. (1986) demonstraram completa digestão das paredes das células do mesofilo (não-lignificada) isoladas de folhas de *Lolium* após 8 horas de incubação em fluido ruminal.

A composição química da parede celular, principalmente dos compostos da lignina, diferentes graus de digestibilidade em materiais com proporções de tecidos lignificados e/ou teores de lignina semelhantes e a forma como os ácidos ferúlico e p-cumárico estão associados à lignina afeta a digestibilidade

da matéria seca (HATFIELD et al., 1999a). Assim, frações que apresentem a mesma área de tecidos lignificados podem apresentar resistência diferenciada à digestão.

A presença de lignina e o espessamento das paredes celulares podem causar a maioria dos problemas de aproveitamento de energia disponível nas forragens tropicais (WILSON, 1976). O caule pode apresentar menor digestibilidade devido ao alto teor de lignina comparado com outros órgãos. Já a bainha foliar pode ter menor degradação do que a lâmina foliar devido à mais alta proporção de tecidos lignificados (SILVA-LIMA et al., 2001b). Cultivares da mesma espécie e espécies de mesmo gênero podem apresentar incrementos de lignina diferenciados (BRITO & RODELLA, 2002).

O esclerênquima da folha pode ser parcialmente degradado perifericamente. Em contrapartida, o anel esclerenquimático em caules e os vasos condutores do xilema de folhas e caules, são mais resistentes à colonização ruminal microbiana e à degradação ruminal, podendo formar uma barreira inerte à digestão (WILSON, 1976).

As folhas de sombra podem ter menor proporção de tecido esclerenquimático (BJÖRKMAN, 1981). Pode ocorrer uma variação na quantidade dos tecidos esclerenquimático e vascular das folhas no sentido da posição inferior para a posição superior de disposição dos ramos. De modo geral as folhas mais jovens apresentam menor proporção de tecidos lignificados, porém há espécies em que o inverso ocorre (ALVES DE BRITO & RODELLA, 2001).

A proporção de lignina pode aumentar com o acréscimo de temperatura o que pode contribuir com o empobrecimento da qualidade das gramíneas forrageiras tropicais (FORD et al., 1979).

A deficiência de boro (B) pode possibilitar a menor lignificação dos tecidos; causar a deslignificação das paredes das células do esclerênquima; inviabilizar a estabilização do cálcio com as pectinas causando problemas na lamela média dificultando a coesão entre as células do xilema (MORAES et al., 2002).

O excesso de nitrogênio pode reduzir compostos fenólicos, conseqüentemente, a lignina das folhas (SILVEIRA et al., 2001). A área ocupada pelos tecidos lignificados pode aumentar com o crescimento das plantas, tanto em folhas quanto em caules (ALVES DE BRITO *et al.*, 1999).

Como pode ser visto, a grande proporção de lignina, componente estrutural das paredes celulares, é limitante no sentido da qualidade da forragem para a produção animal, pois não é uma substância degradada pelos microrganismos ruminais (WILSON, 1976).

Já a maior proporção de lignina constitui uma barreira física contra microrganismos considerados patógenos. A lignificação proporciona aumento na resistência das paredes à ação de enzimas degradadoras da mesma, na difusão de toxinas do patógeno em direção ao hospedeiro e de nutrientes da planta hospedeira em direção ao patógeno e restrição à colonização por patógenos (PASCHOLATI & LEITE, 1995).

Sob o olhar especialista, alguém poderia pretender melhorar uma planta aumentando o teor de lignina, já outro poderia querer melhorá-la reduzindo o teor de lignina. Como desejar uma planta para ser usada como forragem que, ao mesmo tempo, fosse resistente a microrganismos patógenos e facilmente degradada pelos microrganismos ruminais na perspectiva de sua composição estrutural com lignina?

O xilema é um tecido com enorme proporção de lignina e nesse caso a redução desse tecido significa mais resistência, isso porque os microrganismos transportam-se pelo interior dos vasos. A lignina não deixa de ser uma barreira, porém, se o conceito não for contextualizado, fica equivocado.

Quanto mais espessa a cutícula e mais compacto o parênquima clorofiliano, mais resistente é a planta aos patógenos. Porém, no caso de ser uma planta forrageira essa condição pode reduzir a digestibilidade ruminal. Além disso, o parênquima compacto também interfere na distribuição de carbono o que, conseqüentemente, pode acarretar menor eficiência fotossintética (AGRIOS, 1988).

O resultado da condição estrutural do vegetal muitas vezes é uma razão indireta de dada situação o que inviabiliza também análises reducionistas e padronizadas.

2.4. SUBSTÂNCIAS E CARACTERÍSTICAS QUE INTERFEREM NA DIGESTIBILIDADE RUMINAL

Algumas substâncias e características dos tecidos vegetais podem comprometer a degradação ruminal, entre elas temos a sílica, que é pré-existente ou depositada nos ferimentos dos vegetais. A camada espessa de cutícula que é uma característica de adaptação que diminui a digestibilidade ruminal.

Sabe-se que os feixes vasculares em disposição paralela, característica das folhas de gramíneas, conferem grande resistência física ao limbo. Assim, espera-se que, quanto maior o número de feixes e menor a distância entre eles, mais difícil seja a ruptura dessas frações, quando da apreensão pelos animais, especialmente por bovinos.

A *Brachiaria brizantha* apresenta a medula oca, sendo que esta medula é bem menor, proporcionando uma parede do colmo mais espessa, mesmo com diâmetros de colmo semelhantes entre as espécies (ALVES DE BRITO, 2004).

2.5. PROPORÇÃO E DEGRADAÇÃO DE TECIDOS VEGETAIS

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 diferenciada (AKIN & BURDICK, 1975).

Assim, medidas da proporção dos tecidos com elevado conteúdo celular e/ou delgada parede primária (não lignificada), de alta digestibilidade, e daqueles tecidos com baixo conteúdo celular e espessa parede celular (freqüentemente lignificada), normalmente associados à baixa digestibilidade,

podem explicar diferenças qualitativas entre espécies e/ou cultivares de forrageiras (WILSON, 1997).

O potencial de digestão dos diferentes tecidos tem sido avaliado em seções transversais da lâmina foliar e do colmo. Têm sido utilizadas duas principais metodologias para observação em microscópio de luz: 1) incubações de fragmentos de 1 a 2cm em líquido ruminal, com posterior desidratação, seccionamento em micrótomo, coloração e montagem em lâminas permanentes (BRITO et al., 1999), e 2) incubações de fragmentos de 16 ou 100 µm previamente aderidos à lâmina de microscópio por meio de fita adesiva de face dupla. Nesse caso, as lâminas, após incubação, são lavadas com água destilada e levadas diretamente ao microscópio para avaliação do desaparecimento dos tecidos (PACIULLO, 2000).

Estudos mostram que os microorganismos colonizaram praticamente todas as partículas que chegaram ao rúmen. A maior rota de invasão parece ser via lesão da epiderme (CHESSON & 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 (AKIN et al., 1973), as quais possuem apenas uma delgada parede primária não-lignificada. Esses tipos de células são facilmente fragmentadas em partículas pequenas, sendo rápida e completamente digeridas (CHESSON et al., 1986).

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 (WILSON, 1993). Esses tecidos formam um sólido bloco multicelular no interior do rúmen, resultando em partículas de grande tamanho e pouco digeridas, em razão da lignificação e de problemas na acessibilidade dos microorganismos do rúmen à superfície da parede celular (WILSON & 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 das células desses 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*, essas 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).

Correlações altamente significativas entre a proporção de tecidos individuais, ou em combinação, e as características nutricionais têm sido observadas (PACIULLO, 2000). Tecidos com 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, e ainda a espessura da parede celular, correlacionam-se positivamente com os teores de parede celular e de lignina e negativamente com a digestibilidade.

Sobre a importância da anatomia no controle do consumo, Minson & 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 reconheceram 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, o fato de os experimentos sobre o consumo requererem grande quantidade de forragem, que, por sua vez, apresenta diferentes proporções de lâmina, bainha e colmo, cada uma com anatomia própria.

2.6. DIFERENÇAS ANATÔMICAS QUE INTERFEREM NA DEGRADAÇÃO RUMINAL DE GRAMÍNEAS C₃ E C₄

Gramíneas C₃ 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 (WILSON, 1993). Os feixes vasculares são separados por um mesofilo com células esparçamente arranjadas. Nas gramíneas C₄, observa-se, ao redor dos feixes vasculares, uma bainha de células grandes com paredes que apresentam espessura até cinco vezes à das células do mesofilo (WILSON, 1993).

Esta bainha, denominada bainha parenquimática dos feixes vasculares, rica em cloroplastos, participa do processo fotossintético. Nas espécies C₄, as células do mesofilo apresentam-se densamente arranjadas, formando uma estrutura radial ao redor dos feixes vasculares, denominado arranjo tipo Kranz.

Akin (1989), sugeriu a divisão dos tecidos foliares de gramíneas C₄ 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 C₃, apenas o xilema e a bainha interna dos feixes são resistentes à digestão. Em uma posição intermediária, parcial e lentamente digestível, encontra-se o esclerênquima.

São rapidamente digeridos o mesofilo, o floema e a epiderme. A bainha parenquimática dos feixes, nas espécies C₃, pode ser lenta ou rapidamente digestível, dependendo da espécie. 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 rapidamente 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 revela que a maior parte dos tecidos presentes na lâmina foliar das gramíneas de clima temperado C₃ são rapidamente digeridos, enquanto nas espécies C₄ estes tecidos representam uma menor proporção do total de tecidos. Por outro lado, nas gramíneas C₄, os tecidos de digestão lenta e

parcial, assim como os resistentes à digestão, ocupam a maior área da lâmina. Essas diferenças na proporção de tecidos explicam, em parte, a maior qualidade das lâminas foliares das espécies C_3 em relação às C_4 .

Em geral, as espécies C_4 apresentam, na lâmina foliar, maior proporção de tecidos condutores, bainha parenquimática dos feixes e esclerênquima. Porém, as espécies C_3 se destacam pela maior proporção de mesofilo, ocupando 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 C_4 e C_3 , quanto entre espécies dentro de um mesmo grupo fotossintético (AKIN, 1989).

A epiderme de certas espécies C_4 apresenta-se firmemente segura ao restante da folha por um suporte de células de parede espessa, formado pelo esclerênquima e pelas células da bainha do feixe vascular (WILSON et al., 1989b).

Ainda que facilmente degradado, o mesofilo nas gramíneas C_4 é, pelo forte adensamento celular, mais lentamente digerido que nas espécies C_3 , cujas células são mais frouxamente arranjadas, apresentando poucos pontos de aderência entre si. Byott (1976) estimou que, em lâminas de gramíneas C_4 , existem de 3 a 12% de espaços intercelulares, enquanto nas C_3 esses 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.

2.7. ORGANIZAÇÃO DOS TECIDOS NA LÂMINA FOLIAR

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. A resistência à digestão é maior em espécies que apresentam o suporte de células nas epidermes abaxial e adaxial ("girder" I),

relativamente às 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 às que com paredes com superfície lisa, como na maioria das gramíneas de clima temperado (WILSON, 1994).

2.8. LIGNIFICAÇÃO X ESPESSAMENTO DA PAREDE CELULAR

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. Essa 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 dessas 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, a degradação desses polissacarídeos, quando presentes na parede celular, raramente é completada. A extensão da degradação 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).

Nesse caso, como a espessura média da parede destas células é de $0,2\mu\text{m}$ (CHENG et al, 1980), obtém-se uma taxa de digestão em torno de $0,025\ \mu\text{m hora}^{-1}$. Wilson & Hatfield (1997) estimaram taxa semelhante para digestão da parede secundária lignificada do esclerênquima, enquanto Paciullo (2000) encontrou taxas variando de $0,007$ a $0,018\ \mu\text{m hora}^{-1}$ para as gramíneas forrageiras *Brachiaria decumbens*, *Melinis minutiflora* e *Cynodon* sp. A espessura das paredes das células do esclerênquima é fortemente influenciada pelo estágio de desenvolvimento e varia com a espécie.

Na literatura são encontrados valores de $1,30\mu\text{m}$ para *Cenchrus ciliaries* (MOGHADDAM & WILMAN, 1998), $1,92\mu\text{m}$ para *Brachiaria brizantha* (PACIULLO et al., 1999), $2,08\mu\text{m}$ para *Melinis minutiflora*, $2,72\mu\text{m}$ para *Cynodon* sp e $3,74\ \mu\text{m}$ para *Brachiaria decumbens* (PACIULLO, 2000). Considerando a espessura média de $2,5\mu\text{m}$ e a taxa de digestão de $0,025\ \mu\text{m h}^{-1}$, e assumindo que os microorganismos têm imediato acesso à superfície da parede, deduz-se que menos de 50% ($1,2\mu\text{m}$) da parede celular do esclerênquima será digerida após 48h.

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. Para reforçar essa hipótese e estimar a relativa inacessibilidade, Wilson & Mertens (1995) demonstraram a influência da relação área superficial/volume de parede (AS/VP) das células do mesofilo, do esclerênquima e do parênquima do colmo.

As espessuras das paredes celulares consideradas para cálculo foram de 0,15; 1,0 e 2,4 μ m, respectivamente, para o mesofilo, o parênquima e o esclerênquima. Assumiu-se, ainda, que as células do mesofilo são digeridas nas superfícies externa e interna, enquanto para os outros dois tipos celulares a digestão ocorre apenas na face da parede voltada para o lúmen.

As estimativas da relativa exposição da parede celular (relação AS/VP) ao ataque microbiano e, conseqüentemente, à digestão, mostraram valores de 66:10:1 para o mesofilo, o parênquima do colmo e o esclerênquima, respectivamente. Isso significa que as células do esclerênquima isoladas são 66 vezes menos acessíveis aos microorganismos do rúmen que as células do mesofilo e 10 vezes menos que as células do parênquima.

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.

O problema pode ser agravado, tendo em vista que tecidos como o esclerênquima e o xilema, formam, após a mastigação, grandes partículas contendo centenas de células. Nesse caso, pelos cálculos de Wilson & Mertens (1995), a acessibilidade dos microorganismos ao bloco de células deve ser 180 vezes menor que em células do mesofilo. 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 elevada digestão de células esclerenquimáticas fortemente lignificadas, evidenciando que as restrições físicas exercem importante papel no processo de digestão da parede celular.

A forte correlação negativa normalmente observada entre os teores de lignina e a digestibilidade de gramíneas forrageiras (JUNG et al., 1997), em diferentes estádios de desenvolvimento, não invalida a hipótese de que a lignina não é o único fator importante responsável pela baixa digestão da parede celular.

Isso porque, paralelamente à intensificação da lignificação, ocorre aumento das limitações estruturais com o desenvolvimento dos tecidos. No colmo, acontece maior esclerificação das células de parênquima, associada à formação e ao espessamento da parede secundária, o que também pode ser observado nas células do esclerênquima da folha.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A baixa digestão de alguns tecidos advém, principalmente, do arranjo adensado de suas células e da elevada espessura das paredes celulares que, geralmente, apresentam-se lignificadas.

Contudo, estudos avaliando a influência da estrutura anatômica sobre a qualidade de gramíneas forrageiras ainda são escassos, tendo em vista o potencial de desenvolvimento desta área. A necessidade de se estabelecer um banco de informações a respeito da anatomia das diferentes gramíneas forrageiras torna-se evidente para permitir avanços no conhecimento das relações entre os fatores anatômicos e a qualidade das gramíneas forrageiras.

Por essa razão, determinações da proporção de tecidos associadas a medições da espessura da parede das células de alguns tecidos, como o esclerênquima, podem melhorar as estimativas do valor nutritivo de gramíneas forrageiras, bem como orientar trabalhos de melhoramento genético.

Portanto, se cada especialista estiver com a atenção direcionada somente à sua área muitos equívocos podem ser cometidos. Existe grande número de trabalhos que apresentam relações interessantes entre a anatomia vegetal, nutrição animal e a fitotecnia, mas é limitante o fato destes estudos serem realizados somente sob a ótica disciplinar. Infelizmente, a especialização do conhecimento, ao mesmo tempo em que, aprofunda o conhecimento pode equivocar-se por desconsiderar o contexto.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. 1997. **Plant Pathology**. 4 ed. USA, Academic Press.
- AKIN, D.E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. **Agron J**, v.81, n.1, p.17-25, 1989.
- AKIN, D.E. Section to slide technique for study of forage anatomy and digestion. **Crop Sci**, v.22, p.444-446, 1982.
- AKIN, D.E., AMOS, H.E., BARTON, F.E., *et al.* Rumen microbial degradation of grass tissue by scanning electron microscopy. **Agron J**, v.65, n.5, p.825-828, 1973.
- 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.661-668, 1975.
- Alves de Brito, C.J.F.A. & Rodella, R.A. 2001. Breve histórico das relações entre anatomia vegetal e qualidade de gramíneas forrageiras com ênfase para o gênero *Brachiaria*. **Revista de Agricultura** **76**(1): 19-36.
- Alves de Brito, C.J.F.A. & Rodella, R.A. 2001. Breve histórico das relações entre anatomia vegetal e qualidade de gramíneas forrageiras com ênfase para o gênero *Brachiaria*. **Revista de Agricultura** **76**(1): 19-36.
- Alves de Brito, C.J.F.A.; Rodella, R.A.; Deschamps, F.C. & Alquini, Y. 1999. Anatomia quantitativa e degradação *in vitro* de cultivares capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.). **Revista Brasileira de Zootecnia** **28**(2): 223-229.
- Björkman, O. 1981. Responses to different quantum flux densities. Pp. 57-107. In: O.L. Langel; P.S. Nobel; C.B. Osmond & H. Ziegler (eds.). **Encyclopedia of Plant Physiology: Physiological Plant Ecology I. v. 12a. (New series)**. New York, Springer Verlag.
- Bosabalidis, A.M. & Kofidis, G. 2002. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive Cultivars. **Plant Science** **163**: 375-379.
- Lopes-Trujillo, R. & Garcia-Elizondo, R. 1995. Botanical composition and diet quality of goats grazing natural and grass resseeded shrublands. **Small Ruminants Research** **16**: 37-47.
- Brito, C.J.F.A. & Rodella, R.A. 2002. Caracterização morfoanatômica da folha e do caule de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf e *B. humidicola* (Rendle) Schweick. (Poaceae). **Revista Brasileira de Botânica** **25**(2): 221-228.
- BRITO, C.J.F.A., 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.
- BYOTT, G.S. Leaf air space system in C3 and C4 species. **New Phytol.** v.76, p.295-299, 1976.
- CHENG, K.J., FAY, J.P., HOWARTH, R.E., *et al.* Sequence of events in the digestion of fresh legume leaves by rumen bacteria. **Appl Environ Microbiol**, v.40, p.613-625, 1980.
- CHERNEY, D.J.R., CHERNEY, J.H., PATTERSON, J.A. *In vitro* ruminal fiber digestion as influenced by phenoliccarbohydrate complexes released from sorghum cell walls. **Anim Feed Sci Technol**, v.39, p.79-93, 1992.

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.251-284.

CHESSON, A., STEWART, C.S., DALGARNO, K., *et al.* 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.327-336, 1986.

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.357-373, 1996.

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.1551-1559, 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.315-323, 1991.

GRABBER, J.H., JUNG, G.A., ABRAMS, S.M., *et al.* Digestion kinetics of parenchyma and sclerenchyma cell walls isolated from orchardgrass and switchgrass. **Crop Sci**, v.32, p.806-810, 1992.

Grewal, R.K.; Dhillon, M.; Sampuran K. & Kaur, S. 1999. Role of palisade parenchyma of tomato plants in resistance to late blight pathogen. **Crop Improvement** 26(1): 52-55.

Grewal, T.S.; Indu, S.; Aujla, S.S. & Sharma, I. 1999. Role of stomata and hairs in resistance/susceptibility of wheat to Karnal bunt. **Journal of Mycology and Plant Pathology** 29(2): 217-221.

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.

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.1347-1354, 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 crosslinking by ferulates and diferulates in grasses. **Journal of Science Food Agriculture**, v.79, p.403-407, 1999a.

INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO, 1997, Viçosa. **Anais...** Viçosa : UFV, 1997. p.173-208.

JUNG, H.G. Forage lignins and their effects on fiber digestibility. **Agron J**, v.81, p.33-38, 1989.

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.315-346.

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.1622-1628, 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** Jacq., águas e seca. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu : SBZ, 1998. p.269-271.

Marschner H. 1995. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. San Diego, Academic Press.

MARVIN, H.J.P., KRECHTING, C.F., VAN LOO, E.N., *et al.* Relationship between phenolic acids formed during rumen degradation of maize samples and *in vitro* digestibility. **J Sci Food Agric**, v.71, p.111-118, 1996.

MINSON, D.J., WILSON, J.R. Prediction of intake as an element of forage quality. In: 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.533-563.

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.

Moraes-Dallaqua, M.A.; Beltrati, C.M. & Rodrigues, J.D. 2000. Anatomia de ápices radiculares de feijão cv. Carioca submetidos a níveis de boro em solução nutritiva. **Scientia Agricola** **57**(3): 425-430.

MOTT, G.O., MOORE, J.E. Forage evaluation techniques in perspective. In: BARNES, D.C., CLANTON, C.H., GORDON, T.J. *et al.* (ed). **Proc Natl Conf Forage Quality Evaluation and Utilization**. Lincoln, Nebraska : Center Cont. Educ., 1969. p.1-7.

PACIULLO, D.S.C. **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**. Viçosa-MG, 2000. 104p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2000.

PACIULLO, D.S.C., MATTOS, J.L.S., GOMIDE, J.A., *et al.* 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.

Pascholati, S.F. & Leite, B. 1995. Hospedeiro: mecanismos de resistência. Pp. 417-453. In: A. Bergamini-Filho; H. Kimati & L. Amorim. **Manual de Fitopatologia**. v.I. Princípios e Conceitos, 3 ed. São Paulo, Agronômica Ceres Ltda.

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.

RAYMOND, W.F. Components in the nutritive value of forages. In: HARRISON, C.M., STELLY, M. BRETH, S.A. (ed). **Forage economics - quality**. S.l., 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.

Silva-Lima, L.M.; Alquini, Y.; Brito, C.J.F. & Deschamps, F.C. 2001a. Degradação ruminal dos tecidos vegetais e composição bromatológica de cultivares de *Axonopus scoparius* (Flüegge) Kuhl. e *Axonopus fissifolius* (Raddi) Kuhl. **Ciência Rural** **31**(3): 509-515.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca : Cornell University, 1994. 476p.

WILSON, J.R. Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. **J Agric Sci**, v.122, n.2, p.173-182, 1994.

WILSON, J.R. Organization of forage plant tissues. In: JUNG, H.G., BUXTON, D.R., HATFIELD, R.D. *et al.* (Eds). **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison : American Society of Agronomy, Crop Sci. Society of America, Soil Sci. Society of America, 1993. p.1-32.

WILSON, J.R. Structural and anatomical traits of forages influencing their nutritive value for ruminants. In: SIMPÓSIO

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.355-364, 1976.

WILSON, J.R., AKIN, D.E., McLEOD, M.N., *et al.* 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., 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.281-291, 1989a.

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.165-180, 1997.

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.251-259, 1995.

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- 417, 1993.

Wilson, J.R.; Taylor, A.O. & Dolby, G.R. 1976. Temperature and atmospheric humidity effects on cell wall content and dry matter digestibility of some tropical and temperate grasses. **New Zealand Journal of Agricultural Research** 19: 41-46.