Caracterização morfoanatômica do colmo de híbridos de milho para avaliar a qualidade de silagem

Geane Dias Gonçalves Ferreira^{1*}, Jean-Claude Emile², Yves Barrière² e Clóves Cabreira Jobim³

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, Rua Hernesto Dourado, 82, 55296-190, Heliópolis, Garanhuns, Pernambuco, Brasil. ²Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères, Lusignan, França. ³Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: geane@uag.ufrpe.br

RESUMO. O objetivo foi avaliar a caracterização morfoanatômica e suas possíveis correlações com a digestibilidade da parede celular e com a lignina de dez híbridos de milho (DK265bm3, DK265, HS5, HS6, HTV2, HTV27, Anjou285, Mexxal, Pistache e Buxxil), plantados no INRA (Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères, Lusignan-França), em parcelas de 150 m². O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com cinco repetições por tratamento. Com exceção ao comprimento do córtex, verificou-se que os híbridos apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) quanto aos aspectos anatômicos avaliados, sendo que o híbrido DK265bm3 se caracterizou por apresentar menor quantidade de células lignificadas, tanto na região medular quanto na região do córtex, menor porcentagem de parênquima medular e maior porcentagem do córtex em relação aos demais híbridos. Porém, o híbrido DK265bm3 não diferiu dos demais quanto à superfície do feixe vascular e espessura da parede celular do feixe vascular. Por meio de análises de correlação, verificou-se correlação positiva entre os teores de lignina klason e lignina em detergente ácido com as quantidades de células lignificadas no parênquima e córtex. A DIVFDN apresentou correlação negativa com a proporção de células lignificadas no parênquima medular e células lignificadas no córtex.

Palavras-chave: anatomia, bm3, celulose, colmos, lignina, milho, monocotiledônea.

ABSTRACT. Morphoanatomical characterization of corn hybrids stems, in order to evaluate silage quality. The objective was to evaluate morphoanatomical characteristics and possible correlations with cell wall digestibility and with lignin of ten corn hybrids (DK265bm3, DK265, HS5, HS6, HTV2, HTV27, Anjou285, Mexxal, Pistachio and Buxxil) planted at INRA (Unité of Génétique Amélioration des Plant Fourragères, Lusignan, France) in 150 m² areas. A completely randomized experimental design with five replications was used. With exception for cortical length, significant differences were verified as for the evaluated morphoanatomical aspects, with hybrid DK265bm3 being characterized by lower counts of lignified cells in the medullar parenchyma and cortical areas, lower percentage of medullar parenchyma and higher percentage of cortex in relation to other hybrids. However, DK265bm3 did not differ from other hybrids in regards to vascular bundle surface and cell wall thickness of the vascular bundle. Using correlation analysis a positive correlation was observed between the levels of Klason lignin and lignin in acid detergent with the number of lignified cells in the parenchyma and cortex. IVCNDF showed a negative correlation with the proportion of lignified cells in medullar parenchyma and lignified cells in the cortex.

Key words: anatomy, bm3, cellulose, stems, lignin, corn, monocotyledon.

Introdução

Durante muito tempo, tem-se procurado, nos diferentes híbridos de milho destinados para confecção de silagem, boa produção de matéria seca, precocidade, resistência contra agentes externos e, principalmente, bom valor alimentício. Entretanto, o envelhecimento dos tecidos vegetais e a conseqüente redução na digestibilidade são fenômenos intimamente associados. Com o avanço da maturidade

fisiológica, as forrageiras acumulam maior quantidade de matéria seca, ganhando altura pelo alongamento dos colmos e das folhas. Nos tecidos das plantas, observa-se redução do lume das células, pelo espessamento da parede celular, com a conseqüente ampliação da área ocupada pelo tecido vascular lignificado (Wilson, 1993; Álvares de Brito *et al.*, 1999; Álvares de Brito *et al.*, 2002). A composição bromatológica e estrutural do colmo é

considerada elemento fundamental para determinar a digestibilidade, tanto da matéria seca como da parede celular, de diferentes variedades genéticas de milho destinadas à produção de silagem. A proporção de tecidos e, também, a proporção dos elementos que compõem o colmo apresentam-se como fator chave para maior ou menor digestibilidade.

Existem fatores que limitam a qualidade da forragem e, estes são complexos e interativos (Akin, 1989), como, por exemplo, a composição da parede celular dos diferentes tecidos das plantas e suas possíveis correlações negativas com as taxas de digestão (Mechin, 2000; Deschamps e Ramos, 2002). Porém, a proporção de vasos condutores existentes nas plantas, além da sua composição celular, pode apresentar importante recurso de trabalho para futuras avaliações de plantas forrageiras.

Um dos principais objetivos em se estudar a histologia dos colmos das diferentes variedades genéticas de milho é para melhor compreensão das diferenças no consumo e na digestibilidade da matéria seca de folhas e colmos da parede celular, e as suas possíveis correlações com os tecidos existentes na planta. Segundo Wilkins (1972), algumas paredes celulares presentes nas células em gramíneas são lignificadas e o conteúdo de tecido lignificado é variável. O efeito negativo da lignina sobre a digestibilidade de outros componentes da parede celular está ligado, por exemplo, a sua possível distribuição em relação aos outros componentes da parede celular. Porém, o estudo da distribuição dos tecidos lignificados, em plantas forrageiras, ainda é pouco explorado.

Atualmente, os principais resultados encontrados na literatura são voltados para composição química da parede celular, sem levar em consideração a distribuição dos tecidos na planta. Neste contexto, Mechin (2000), estudando a histologia de diferentes colmos de linhagens de milho, registrou correlação positiva e negativa ($r = 0,55$ e $r = -0,73$) entre os valores de digestibilidade da parede celular e as superfícies de celulose e lignina, além de correlações negativas, porém não-significativa ($r = -0,23$ e $r = -0,25$), entre a espessura do córtex e superfície dos feixes vasculares nos cortes histológicos avaliados. Ferreira (2003) observou correlação positiva ($r = 0,70$) entre as quantidades de células lignificadas da região medular e a porcentagem da região medular de diferentes colmos de genótipos de milho. Estes resultados encontrados pelas autoras revelam que, talvez, por meio do estudo de cortes histológicos, seja possível encontrar respostas

positivas ou negativas, para os fatores que afetam a digestibilidade da parede celular das diferentes variedades genéticas existentes.

As variedades genéticas de milho, destinadas para confecção de silagem, apresentam algumas particularidades. Por exemplo, os mutantes de milho *brown-midrib (bm)* têm sido produzidos por meio da engenharia genética. Estes são caracterizados por apresentar baixos teores de lignina e ácido *p-cumárico*, isto faz com que eles apresentem maiores valores de digestibilidade da parede celular quando comparado com outras variedades de milho existentes (Akin, 1988). Porém, os genótipos de milho *bm3* são caracterizados por apresentar baixa produção de matéria seca, que os torna pouco comercializados.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar morfológica e anatomicamente o colmo de híbridos de milho (*Zea mays* L.).

Material e métodos

O experimento foi estabelecido em área experimental do Inra (Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères) em Lusignan-França, com semeadura em maio de 2002 e colhidos em setembro de 2002, após 152 dias da semeadura.

Dez híbridos de milho, sendo nove genótipos normais (DK265, HS5, HS6, HTV2, HTV27, Anjou285, Mexxal, Pistache e Buxxil) e um híbrido *bm3* (DK265*bm3*), foram plantados em parcelas com tamanho médio de 150 m² por híbrido, com espaçamento entre linhas de 0,75 m e densidade de sementes de 95.000 plantas ha⁻¹.

Foi realizada a coleta de cinco plantas por parcela, dos respectivos híbridos para a caracterização morfoanatômica dos híbridos. Em seguida, foi realizada a amostragem de 5 cm do colmo no entrenó imediatamente abaixo da inserção da espiga principal de cada planta. As amostras foram identificadas e armazenadas em frascos de polietileno, contendo solução de fixação (paraformaldeído 0,02 mL mL⁻¹ mais glutaraldeído 0,25 g mL⁻¹) e, por fim, ficaram armazenadas em câmara fria até as análises laboratoriais.

Foi feita a medida da superfície total para a determinação do raio para cada amostra de colmo. Em seguida, foram feitos três cortes de 70 μm de diâmetro, com a ajuda de um Vibratome 1000 (lâmina e amostra inertes em água). Após, foi adicionado hipoclorito de sódio (0,06 ml mL⁻¹) em todas as seções obtidas no Vibratome, durante 20 minutos. O hipoclorito de sódio foi utilizado para eliminar todo o conteúdo celular, evitando, desta

forma, precipitação entre o conteúdo celular e o corante. O hipoclorito de sódio permite, também, melhor visualização da parede celular (Tolivia e Tolivia, 1987). Os cortes (frações) foram, em seguida, lavados por três vezes com água desmineralizada, durante 15 minutos. Finalizadas todas etapas de lavagem, os cortes foram incubados durante uma noite, em solução de fasga diluída a 1/8 (Tolivia e Tolivia, 1987). Para finalizar, os cortes receberam a última lavagem com água desmineralizada e foram colocados individualmente entre lâmina e lamínula com ajuda de uma gota de água por amostra. Todas as lâminas e lamínulas foram seladas com verniz transparente. A coloração dos cortes com solução de Fasga permitiu que a lignina fosse corada em vermelho e a celulose em azul.

As capturas das imagens foram realizadas com a ajuda de uma câmara montada sobre uma lupa binocular e/ou sobre um microscópio. Com uso da lupa (objetiva x 0,8), foram determinados a proporção de células lignificadas do parênquima medular, superfície de uma pequena área do córtex, número de vasos do córtex, superfície dos vasos do córtex, superfície de uma pequena área do parênquima medular, número de vasos do parênquima medular e superfície dos vasos do parênquima medular. Com o uso de microscópio com objetiva x 2, determinou-se o raio do córtex e, com microscópio com a objetiva x 4, determinou-se a proporção de células lignificadas da região do córtex, o tamanho de um dos vasos de cada amostra, além da porcentagem de floema, xilema mais fibras de esclerênquima.

As quantidades de células vermelhas (lignificadas) e células azuis (celulose) do córtex e da região medular foram avaliadas visualmente, por meio de pontuações variando de um a cinco. Sendo 1 para regiões totalmente cobertas por células azuis e 5 para regiões totalmente cobertas por células vermelhas. O número e a superfície dos feixes vasculares do córtex e parênquima medular, após captura das imagens, foram estimados em áreas padronizadas de 2,5 e 25 mm, respectivamente.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, segundo o modelo:

$$Y_{ij} = \mu + H_i + R_j + e_{ij},$$

em que:

Y_{ij} = efeito de todas observações;

μ = constante geral;

H_i = efeito do híbrido i ; $i = 1, 2, 3, \dots, 10$;

R_j = efeito da repetição j ; $j = 1, 2, 3, 4$ e 5 ;

e_{ij} = erro-aleatório associado a cada observação Y_{ij} .

Foi feito o estudo de correlação entre as observações anatômicas e os resultados de digestibilidade *in vitro* da parede celular (DIVPC), teores de fibra em detergente neutro (FDN), lignina klason (LK) e lignina em detergente ácido (LDA) referente aos resultados obtidos por Ferreira (2003) para melhor compreender os fatores que afetam a digestibilidade.

Resultados e discussão

Pela análise de variância, verificaram-se diferenças significativas ($p < 0,05$) para todas variáveis avaliadas entre os híbridos, com exceção a largura do córtex (Tabela 1). Verifica-se que o híbrido Pistache apresentou menor raio (9,7 mm) do colmo quando comparado aos demais híbridos, sem diferir do híbrido DK265bm3 (10,1 mm), HS5 (10,4 mm), HS6 (10,5 mm) e HTV2 (10,9 mm). Observa-se (Tabela 2) que, com exceção ao híbrido DK265bm3, houve poucas variações entre os híbridos avaliados quanto aos valores de DIVPC de plantas de milho sem espigas. Verifica-se (Tabela 3) que não houve correlação significativa entre o comprimento do raio do colmo com os teores de FDN ($r = -0,40$), LK ($r = -0,05$), LDA ($r = -0,05$) e valores de DPC ($-0,05$), o que permite inferir que o comprimento do raio do colmo, embora seja uma importante ferramenta nos estudos de avaliações histológicas, não se apresenta como um importante preditor para avaliações de qualidade de híbridos de milho.

Ao contrário dos resultados obtidos por Ferreira (2003), o raio (Tabela 3) não apresentou correlação positiva com as células lignificadas do parênquima medular, células lignificadas do córtex, número de feixes vasculares do córtex e número de feixes vasculares do parênquima medular. Estes resultados podem ser justificados pelo fato de que os híbridos de milho são caracterizados por apresentar maior diâmetro do colmo e, conseqüentemente, maiores teores de lignina em relação aos genótipos puros estudados por Ferreira (2003). O híbrido DK265bm3 foi o que apresentou menores valores de células lignificadas no parênquima medular (1,2) e córtex (1,7) em relação aos demais híbridos avaliados (Tabela 1), confirmando dados de literatura em relação às características histológicas dos genótipos *bm* (Akin, 1988; Jung, 1996; Baucher *et al.*, 1998). Por outro lado, verifica-se que o híbrido Pistache (Tabela 1) apresentou os maiores valores de células lignificadas na região medular (4,4), entretanto não diferindo dos híbridos Mexxal (4,2) e HTV27 (3,6).

Tabela 1. Avaliação morfo-anatômica do colmo de híbridos de milho.**Table 1.** Evaluation morpho-anatomical of corn hybrids stem.

Genótipos Genotypes	Variáveis Variables													
	R ¹	CLP ²	CLC ³	PM ⁴	CO ⁵	LC ⁶	SFV ⁷	SX ⁸	SF ⁹	EPCFV ¹⁰	NFVC ¹¹	SFVC ¹²	NEVPM ¹³	SFVPM ¹⁴
DK265bm3	10,1cd	1,2c	1,7d	89,9c	10,0a	0,52a	0,06abc	88,3b	11,6a	0,0042ab	16,78bc	2,28ab	30,5bc	1,49bc
DK265	11,7abc	2,3de	3,8abc	91,3abc	8,6abc	0,52a	0,09a	90,7ab	9,2ab	0,0040bc	13,90c	2,08bc	22,0d	1,29bc
Buxxil	11,4abcd	3,2bcd	4,6a	91,9abc	8,0abc	0,47a	0,06abc	93,5ab	6,4ab	0,0040bc	15,03c	2,07bc	25,8cd	1,65ab
Pistache	9,7d	4,4a	4,4a	90,5bc	9,4ab	0,47a	0,051c	88,2b	11,7a	0,0043a	26,18a	2,04a	33,3ab	1,74ab
Mexxal	12,8ab	4,2ab	3,9abc	92,2ab	7,7bc	0,50a	0,059bc	90,4ab	9,5ab	0,0040bc	23,43a	2,19abc	23,5d	1,05c
HS5	10,4cd	2,9cd	3,8abc	90,5bc	9,4ab	0,51a	0,08abc	91,1ab	8,8ab	0,0041abc	15,81bc	2,16abc	30,0bc	1,69ab
Anjou285	13,0a	2,8cd	4,2ab	92,1ab	7,98bc	0,52a	0,072abc	95,4a	4,5b	0,0040bc	22,16ab	2,25abc	24,9cd	1,57ab
HTV2	10,9bcd	2,6cd	3,4bc	91,8abc	8,1abc	0,45a	0,065abc	90,3ab	9,6ab	0,0039c	22,06ab	2,33a	27,4bcd	1,46bc
HS6	10,5cd	2,6cd	3,2c	91,3bc	8,6ab	0,46a	0,096ab	92,5ab	7,4ab	0,0039c	15,76bc	2,06c	32,8ab	2,05a
HTV27	11,8abc	3,6abc	4,1abc	93,4a	6,5c	0,39a	0,055c	91,8ab	8,1ab	0,0039c	22,07ab	2,31a	37,9a	2,05a
Efeitos* Effects														
Genótipos Genotypes	S	S	S	S	S	NS	S	S	S	S	S	S	S	S
Repetição Repetition	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV ¹⁵ CV	8,22	18,09	12,40	1,08	11,71	13,22	24,49	3,48	36,37	3,63	15,82	4,57	10,21	15,88

Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) (Mean followed by the same letter the same row do not differ by Tukey test ($p > 0,05$)). *Análise de variância (Variance analysis). ¹Raio (mm) (Rayon (mm)); ²Proporção de células vermelhas do parênquima medular (Proportion of red cells of the parenchyma medullar); ³Proporção de células vermelhas do córtex (Proportion of red cells of the cortical); ⁴Parênquima medular (%) (Parenchyma medullar (%)); ⁵Córtex (%) (Cortex (%)); ⁶Largura do córtex (mm) (Width of the cortex (mm)); ⁷Superfície do feixe vascular (Surface of vascular vessel); ⁸Xilema + fibras de esclerênquima (%) (Xylem + esclerenchyma fiber); ⁹Floema (%) (Phloem); ¹⁰Espessura da parede celular do feixe vascular (mm) (Thickness of the cellular wall of the vascular bunch (mm)); ¹¹Número de feixes vasculares do córtex (Number of vascular bunches of the cortex); ¹²Superfície dos feixes vasculares do córtex (mm) (Surface of vascular vessel of cortex (mm)); ¹³Número de feixes vasculares do parênquima medular (Number of vascular bunches of the parenchyma medullar); ¹⁴Superfície dos feixes vasculares do parênquima medular (mm) (Surface of vascular vessel of the parenchyma medullar (mm)); ¹⁵Coefficiente de variação (Coefficients of variation).

Na região do córtex, a proporção de células vermelhas do híbrido Pistache (4,4) não diferiu ($p > 0,05$) dos híbridos Buxxil (4,6), Mexxal (3,9), HS5 (3,8), Anjou 285 (4,2) e do HTV27 (4,1) quanto aos valores de células lignificadas. Porém, quando se observam os valores de DI VPC (Tabela 2), verifica-se que o híbrido HTV27 apresentou menor valor (18,92%) de DIVFDN, associado com valores próximos aos demais híbridos para FDN, LK e LDA. Estes resultados referentes à DIVFDN podem ser melhor justificados pelas proporções de ligações (éter ou éster) existentes entre as lignina, ácidos fenólicos e hemiceluloses que não foram avaliadas no presente trabalho. Segundo vários autores (Jung, 1989; Marvin et al., 1995; Morrison et al., 1998; Deschamps, 1999; Barrière e Emile, 2000; Deschamps e Ramos, 2002; Ferreira et al., 2005), as variações na digestibilidade podem ser melhor explicadas pelas variações nos teores de lignina e fenólicos totais, ou seja, suas proporções entre as ligações éster e éter.

Verifica-se que houve correlações positivas (Tabela 3) entre a proporção de células lignificadas na região do parênquima medular e região do córtex com os teores de LK, LDA; e que 41% da resposta referente à DIVFDN podem ser justificados pela proporção de células lignificadas na região do parênquima medular, enquanto que as células lignificadas da região do córtex explicam 65% desses valores. Estes resultados confirmam que o grau de lignificação da parede celular constitui fator

limitante na digestibilidade das forragens, fato também destacado por Baucher et al. (1998) e Boudet (2000). Em relação aos teores de FDN, não foi verificada correlação significativa com as células lignificadas do córtex, talvez por causa da diluição da lignina com os demais componentes da parede celular (celulose e hemicelulose).

Tabela 2. Valores médios da composição químico-bromatológica e digestibilidades da planta sem espigas de híbridos de milho.**Table 2.** Medium values of the chemical composition and digestibilidade of the plant without ears of corn hybrid.

Híbridos Hybrids	Itens Items			
	%FDN ¹ %NDF	%LK ² %KL	%LDA ³ %ADL	%DIVFDN ⁴ %DIVNDFD
DK265	65,82de	14,16b	5,89de	22,68bc
Anjou285	71,41b	14,29ab	5,84e	22,53bc
Dk265 bm3	64,88e	10,96c	3,28f	36,56a
Pistache	69,91bc	14,67ab	6,36cde	23,41b
Buxxil	67,69cd	14,70ab	6,25cde	20,51bc
Mexxal	74,55a	15,73a	7,20a	21,63bc
HTV2	69,09bc	14,22ab	6,58bc	21,49bc
HTV27	71,48b	15,31ab	7,06ab	18,92c
HS5	68,42c	15,06ab	6,27cde	23,00b
HS6	70,11bc	15,30ab	6,44cd	21,12bc
CV ⁵ CV	2,05	5,48	5,48	8,40
DP ⁶ SD	2,988	1,430	1,430	5,002
*Efeitos Effects				
Híbridos Hybrids	0,00	0,00	0,00	0,00
Repetição Replicate	NS	NS	NS	NS

Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) (Mean followed by the same letter the same row do not differ by Tukey test ($p > 0,05$)). ¹Fibra em detergente neutro (Neutral detergent fiber); ²Lignina klason (Klason lignin); ³Lignina em detergente ácido (Acid detergent lignin); ⁴Digestibilidade in vitro da fibra em detergente neutro (In vitro neutral detergent fiber digestibility); ⁵Coefficiente de variação (Coefficients of variation); ⁶Desvio padrão (Standard deviation); *Análise de variância (Variance analyze).

Tabela 3. Correlação entre a composição morfo-anatômica, digestibilidade da fibra em detergente neutro e lignina do colmo de híbridos de milho.
Table 3. Correlation between morpho-anatomical composition, neutral detergent fiber digestibility and lignin from without ears of corn of corn hybrid.

	R ¹	CVP ²	CVC ³	PM ⁴	CO ⁵	LC ⁶	SX ⁷	SF ⁸	EPCFV ⁹	NFVC ¹⁰	SFVC ¹¹	NFVPM ¹²	SFVPM ¹³	FDN ¹⁴	DIVFDN ¹⁵	LK ¹⁶	LDA ¹⁷
	R	RCP	RCC	PM	CO	WC	SX	SP	TCHWB	NVBC	SVVC	NVBPM	SVVPM	NDF	DIVFDN	KL	ADL
R	1	-0,24	0,05	-0,003	0,005	0,33	-0,040	0,042	-0,10	-0,42	-0,28	-0,50	-0,36	-0,40	-0,05	-0,054	-0,052
CVP		1	0,77a	0,42	-0,42	-0,38	0,012	-0,004	0,067	0,65c	-0,28	0,14	0,025	0,75 ^b	-0,64c	0,76b	0,78b
CVC			1	0,52	-0,52	-0,26	0,46	0,46	-0,14	0,29	-0,37	-0,12	0,088	0,47	-0,81a	0,76a	0,75b
PM				1	-0,99	-0,60	0,54	-0,53	-0,75b	0,29	0,33	0,02	0,08	0,62	-0,72b	0,58	0,67c
CO					1	0,60	-0,54	0,54	0,75b	-0,29	-0,33	-0,02	-0,08	-0,62	0,72b	-0,58	-0,67c
LC						1	-0,04	0,04	0,43	-0,31	-0,21	-0,69c	-0,62	-0,33	0,52	-0,41	-0,53
SX							1	-0,99a	-0,60	-0,20	-0,003	-0,22	0,24	0,28	-0,51	0,39	0,30
SF								1	0,60	0,20	-0,001	0,22	-0,24	-0,28	0,51	-0,38	-0,30
EPCFV									1	0,19	-0,29	0,10	-0,12	-0,31	0,60	-0,44	-0,50
NFVC										1	0,30	0,24	-0,07	0,67 ^c	-0,20	0,24	0,36
SFVC											1	0,14	-0,09	0,13	0,20	-0,31	-0,15
NFVPM												1	0,83a	0,08	0,008	0,04	0,04
SFVPM													1	-0,03	-0,22	0,17	0,10
FDN														1	-0,58	0,72b	0,73b
DPC															1	-0,93a	-0,94a
LK																1	0,96
LDA																	1

¹<0,01; ²<0,02; ³<0,05. ¹Raio (mm) (Rayon (mm)); ²Proporção de células vermelhas do parênquima medular (Proportion of red cells of the parenchyma medullar); ³Proporção de células vermelhas do córtex (Proportion of red cells of the cortical); ⁴Parênquima medular (%) (Parenchyma medullar (%)); ⁵Córtex (%) (Cortex (%)); ⁶Largura do córtex (Width of the cortex (mm)); ⁷Xilema + fibras de esclerênquima (%) (Xylem + esclerenchyma fiber); ⁸Floema (%) (Phloem (%)); ⁹Espessura da parede celular do feixe vascular (mm) (Thickness of the cellular wall of the vascular bunch (mm)); ¹⁰Número de feixes vasculares do córtex (Number of vascular bunches of the cortex); ¹¹Superfície dos feixes vasculares do córtex (mm) (Surface of vascular vessel of cortex (mm)); ¹²Número de feixes vasculares do parênquima medular (Number of vascular bunches of the parenchyma medullar); ¹³Superfície do feixe vascular do parênquima medular (mm) (Surface of vascular vessel of the parenchyma medullar (mm)); ¹⁴Fibra em detergente neutro (Neutral detergent fiber); ¹⁵Digestibilidade da fibra em detergente neutro (In vitro neutral detergent fiber digestibility); ¹⁶Lignina klason (Klason lignin); ¹⁷Lignina em detergente ácido (Acid detergent lignin).

Observa-se, pelos valores médios (Tabela 1), que o DK265bm3 apresentou baixa porcentagem de parênquima medular (89,9%), associado com alta porcentagem de córtex (10,0%). O genótipo HTV27 apresentou alta porcentagem de parênquima medular (93,4%) e baixa porcentagem de córtex (6,5%), quando comparado com os demais híbridos avaliados. Esta maior porcentagem de parênquima medular, encontrada no colmo do HTV27, pode ajudar a justificar os valores referentes à DPC. Sabe-se que, na região do córtex, encontra-se a maior proporção de células digestíveis. Constatou-se, pelo estudo de correlação (Tabela 3), que a região do parênquima medular e a região do córtex apresentaram correlação negativa ($r = -0,72$) e positiva ($r = 0,72$) com a DIVFDN, respectivamente. Da mesma forma, observou-se correlação positiva ($r = 0,67$) e negativa ($r = -0,67$) entre a região do parênquima medular e região do córtex com a LDA, respectivamente. Estes resultados levam a inferir que, quanto maior a porcentagem de parênquima medular, maior será a porcentagem de LDA associado com baixos valores de DIVFDN.

Verifica-se, pela Tabela 1, que os híbridos DK265bm3 e Pistache foram os que apresentaram menor porcentagem de xilema + fibras de esclerênquima (88,3 e 88,2%), respectivamente, associado com maior porcentagem de floema (11,6 e 11,7%), respectivamente. Desta forma, os resultados referentes à DPC podem ser melhor explicados pela proporção de células lignificadas na região do parênquima medular e região do córtex, como ilustra a Tabela 1. Portanto, constatou-se (Tabela 3) que não houve correlação significativa ($p < 0,02$ e

$p < 0,05$) entre a porcentagem de xilema + fibras e esclerênquima e floema com os teores de FDN, LK, LDA e valores de DPC. Segundo Akin (1989), os colmos das gramíneas apresentam estrutura rígida com grande proporção de tecidos altamente lignificados e não disponíveis para degradação. Estes tecidos incluem a epiderme, esclerênquima e xilema vascular.

Quando se observa o número dos feixes vasculares da região do córtex (NFVC) e do parênquima medular (NFVPM) (Tabela 1), verifica-se que houve grande variação para esses valores entre os genótipos. Porém, quando se avalia a superfície dos feixes vasculares da região do córtex (SFVC) e da região parênquima medular (SFVPM), observam-se poucas diferenças entre os valores dos genótipos avaliados. Como já descrito anteriormente, o híbrido Pistache foi o que apresentou menor comprimento do raio, grande quantidade de células lignificadas no parênquima medular e região do córtex e alto NFVC e NFVPM, o que pode justificar o baixo valor referente à DIVPC.

A espessura da parede celular dos feixes vasculares (EPCFV) variou de 0,0039 a 0,0043 mm entre os híbridos avaliados. Os híbridos HTV2, HS6 e HTV27 apresentaram menor diâmetro médio (0,0039 mm) em relação aos híbridos Pistache e DK265bm3, que não diferem entre si. O valor do diâmetro médio de 0,0042 mm, encontrado para o híbrido DK265bm3, está somente abaixo do valor encontrado para o híbrido Pistache. A avaliação de um único feixe vascular por amostra talvez não apresente grau de confiança suficiente para justificar os resultados, pois, os híbridos bm3 são caracterizados por apresentarem baixos teores de lignina na parede celular (Akin, 1988; Jung, 1996; Baucher *et al.*,

1998) e, segundo Iiyama et al. (1994), as paredes celulares mais lignificadas tendem a serem mais espessas quando comparadas a outras menos lignificadas.

Conclusão

O híbrido mutante DK265bm3 foi o que apresentou os melhores resultados referentes às avaliações histológicas estudadas e, conseqüentemente as suas características, o seu emprego como referência em estudos da qualidade da PC pode ser um importante recurso que possibilite melhor explicar as variações existentes entre os híbridos normais.

A avaliação do número de feixes vasculares, tanto da região do córtex quanto na região medular, deve ser feita juntamente com avaliações da superfície dos feixes vasculares e comprimento do raio para evitar possíveis interpretações incorretas quanto à proporção de feixes vasculares.

A avaliação da espessura da parede celular de um único feixe vascular por amostra não é recomendado nos estudos anatômicos por causa dos possíveis resultados incorretos.

Os resultados significativos de correlação entre as características morfoanatômicas com avaliações de lignina e DIVFDN mostraram ser importantes os estudos de híbridos de milho para melhor explicar as variações na qualidade da forragem.

Referências

- AKIN, D.E. Biological structure of lignocellulose and its degradation in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.*, Amsterdam, v. 21, p. 295-310, 1988.
- AKIN, D.E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. *Agronomie*, Paris, v. 81, p. 17-25, 1989.
- ALVARES DE BRITO, C.J.F. et al. Anatomia quantitativa e degradação *in vitro* de tecidos em cultivares de Capim-Elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.). *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 28, n. 2, p. 223-229, 1999.
- ALVARES DE BRITO, C.J.F. et al. Caracterização morfo-anatômica da folha e do caule de *Brachiaria brizantha* (Hochst. Ex A. Rich.) Stapf e *B. Humidicola* (Rendle) Schweick. (Poaceae). *Rev. Bras. Bot.*, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 221-228, 2002.
- BARRIÈRE, Y.; EMILE, J.C. Le maïs fourrage. III - Evaluation et perspectives de progrès génétique sur les caractères de valeur alimentaire. *Fourrages*, Paris, n. 163, p. 221-238, 2000.
- BAUCHER, M. et al. Biosynthesis and genetic engineering of lignin. *Crit. Rev. Plant. Sci.*, London, v. 17, n. 2, p. 125-197, 1998.
- BOUDET, A-M. Lignins and lignification: selected issues. *Plant Phys. Biochem.*, New Delhi, v. 38, p. 81-96, 2000.
- DESCHAMPS, F.C. Implicações do período de crescimento na composição química e digestão dos tecidos de cultivares de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.). *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 28, n. 6, p. 1358-1369, 1999.
- DESCHAMPS, F.C.; RAMOS, L.P. Método para a determinação de ácidos fenólicos na parede celular de forragens. *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 31, n. 4, p. 1634-1639, 2002.
- FERREIRA, G.D.G. *Características morfo-anatômicas do colmo e valor nutritivo de genótipos de milho (Zea mays L.)*. 2003. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2003.
- FERREIRA, G.D.G. et al. Valor nutritivo de plantas de milho (*Zea mays* L.) sem espigas. *Acta Sci. Anim. Sci.*, Maringá, v. 27, n. 4, p. 433-438, 2005.
- IYAMA, K. et al. Covalent cross-links in the cell wall. *Plant Physiol.*, Horsham, n. 104, p. 315-320, 1994.
- JUNG, H.G. Forage lignins and their effects on fiber digestibility. *Agron. J.*, Madison, v. 81, p. 33-38, 1989.
- JUNG, H.G. Genetic manipulation of cell walls. Identification of cell wall traits that can be manipulated to improve forage digestibility. In: INFORMATION CONFERENCE WITH DAIRY AND FORAGE INDUSTRIES, 1996, Madison. *Annals...* Madison: US Dairy Forage Research Center, 1996. p. 9-14.
- MARVIN, H.J.P. et al. Relationship between stalk cell wall digestibility and fibre composition in maize. *J. Sci. Food Agric.*, London, v. 69, p. 215-221, 1995.
- MECHIN, V. *Etude de facteurs biochimiques et génétiques explicatifs de la variabilité pour la valeur alimentaire du maïs fourrage*. 2000. Tese (Doutorado em Agronomia)-Institut National de la Recherche Agronomique, Lusignan, 2000.
- MORRISON, T.A. et al. Cell wall composition of maize internode of varying maturity. *Crop Sci.*, Madison, v. 38, p. 455-460, 1998.
- TOLIVIA, D.; TOLIVIA, J. Fasga: a new polychromatic method for simultaneous and differential staining of plant tissue. *J. Microscopy*, Oxford, v. 148, p. 113-117, 1987.
- WILKINS, R.J. The potential digestibility of cellulose in grasses and its relationship with chemical and anatomical parameters. *J. Agric. Sci.*, New York, v. 78, n. 3, p. 457-464, 1972.
- WILSON, J.R. Organization of forage plant tissues. In: JUNG, H.G. et al. (Ed.). *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison: ASA/CSSA/SSSA, 1993. cap. 1, p. 1-32.

Received on June 02, 2006.

Accepted on March 20, 2007.