



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM AGRONOMIA

CAMILA BAPTISTÃO ZANIBONI

**ESTUDOS BROMATOLÓGICOS DE MUTANTES INDUZIDOS POR EMS DE
Urochloa brizantha cv. Marandú**

CAMILA BAPTISTÃO ZANIBONI

**ESTUDOS BROMATOLÓGICOS DE MUTANTES INDUZIDOS POR EMS DE
Urochloa brizantha cv. Marandú**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador:
Prof. Dr. Nelson Barbosa Machado Neto

633.202
Z31e

Zaniboni, Camila Baptistão.

Estudos bromatológicos de mutantes induzidos por EMS de *Urochloa brizantha* cv. Marandú / Camila Baptistão Zaniboni. – Presidente Prudente, 2017.
43f.: il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2017.

Bibliografia.

Orientador: Nelson Barbosa Machado Neto

1. Alimentação. 2. Animal. 3. Pastagem. I. Título.

Campus I Rua José Bongiovani, 700 · Cidade Universitária · CEP 19050 920 · Presidente Prudente SP · Tel|Fax: 18 3229 1000
Campus II Rodovia Raposo Tavares, Km 572 · Bairro Limoeiro · CEP 19067 175 · Presidente Prudente SP · Tel|Fax: 18 3229 2000

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "ESTUDOS BROMATOLÓGICOS DE MUTANTES INDUZIDOS POR EMS DE
Urochloa brizantha cv. Marandú"

AUTOR(A): CAMILA BAPTISTÃO ZANIBONI

ORIENTADOR(A): NELSON BARBOSA MACHADO NETO

Aprovado(a) como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE em
AGRONOMIA

Área de Concentração PRODUÇÃO VEGETAL, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Carlos Sérgio Tiritan



UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Prof. Dr. Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho

UNOPAR – Universidade Norte do Paraná / Arapongas(PR)



Prof. Dr. Nelson Barbosa Machado Neto



UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Data da realização: Presidente Prudente, 28 de setembro de 2018.

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus familiares e a todos que me apoiaram e estiveram ao meu lado durante toda essa jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me concedeu a oportunidade de viver e poder aprender a cada dia, e a ter me dado chance a de estar concluindo minha pós-graduação. Aos meus pais que sempre me apoiaram e acreditaram em mim desde o princípio, me fornecendo todos os recursos necessários para eu chegar até aqui, me dando tudo o que precisei com muito carinho e amor todos os dias de minha vida. Aos meus amigos que me ajudaram com o desenvolvimento do projeto e formatação do mesmo.

Lista de Figuras

- Figura 1** - Teores de lignina, com base em matéria seca, em quatro espécies forrageiras submetidas à análise com diferentes quantidades de amostras e de soluções extratoras.28
- Figura 2** - Teores de proteínas com base em matéria seca, em quatro espécies forrageiras submetidas à análise com diferentes quantidades de amostras e de soluções extratoras.30
- Figura 3** - Teores de FDN (celulose, hemicelulose, lignina, proteína danificada pelo calor e matéria mineral (cinzas) com base em matéria seca, em quatro espécies forrageiras submetidas à análise com diferentes quantidades de amostras e de soluções extratoras.31
- Figura 4**- Teores de celulose, lignina, proteína danificada pelo calor e minerais com base em matéria seca, em quatro espécies forrageiras submetidas à análise com diferentes quantidades de amostras e de soluções. extratoras.....32
- Figura 5** - Teores de lignina com base em matéria seca nas amostras de *Urochloa brizantha* cv. Marandú nos materiais derivados por mutação com EMS.....33
- Figura 6** - Teores de proteínas com base em matéria seca nas amostras de *Urochloa brizantha* cv. Marandú nos materiais derivados por mutação com EMS.....35
- Figura 7** - Teores de celulose, hemicelulose, lignina, proteína lignificada, cinzas e proteína danificada (FDN) com base em matéria seca nas amostras de *Urochloa brizantha* cv. Marandú nos materiais derivados por mutação com EMS.....35
- Figura 8** - Teores de celulose, lignina, proteína lignificada, cinzas e proteína danificada (FDA) com base em matéria seca nas amostras de *Urochloa brizantha* cv. Marandú nos materiais derivados por mutação com EMS.36

RESUMO

Bromatologia de mutantes de *Urochloa brizantha* cv. Marandú com diferentes hábitos de crescimento

O melhoramento genético de plantas forrageiras vem sendo desenvolvido de maneira eficaz para melhor aproveitamento do material obtido, menores custos e maior resistência climática pragas devendo os materiais, antes de serem recomendados, serem avaliados para os valores nutricionais. Atualmente muitos métodos são utilizados para facilitar processos de análises para fins bromatológicos. Todavia, alguns casos, as análises precisam ser feitas com uma única planta e devido ao volume necessário de amostra, a quantidade necessária exigida não é atingida, sendo imperativa a redução da mesma para proporções que permitam uma análise adequada e com resultados confiáveis, na quantidade de amostra disponível. No presente trabalho foram efetuados dois experimentos com amostras diferentes. Um para balizar as reduções de amostra do protocolo inicial, para obtenção de resultados confiáveis e comparáveis ao protocolo padrão, com reduções para 75, 50 e 25% da amostra original, utilizando-se para isso amostras de braquiárias *Urochloa brizantha* e *U. ruziziensis* cana-de-açúcar. O segundo experimento foi realizado utilizando cinco linhas mutantes, as linhas 4C, 10M₂, 3B, 15B, derivadas de *Urochloa brizantha* cv Marandu, e cultivar que serviu como base, os quais foram avaliados em quatro épocas do desenvolvimento das plantas (35, 70, 105 e 140 dias). As análises foram conduzidas no laboratório de nutrição animal do Campus 2 da Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE. Os resultados das reduções mostraram que estas podem ser realizadas e originaram resultados com a mesma confiabilidade da análise original. As amostras podem ser reduzidas para até 25% do volume original para proteína e para 75% quando analisadas celulose; hemicelulose e lignina. O mutante 4C não apresentou diferenças significativas quanto ao total de lignina durante os estágios de maturação, nas demais amostras observou-se que o grau de maturidade da planta influencia diretamente em sua qualidade nutricional. Conclui-se que o mutante 4C apresenta estabilidade na lignina e no teor de fibras, apresentando uma quantidade de proteína significativamente elevada com 140 dias de maturação, sendo assim o mais indicado para o plantio devido suas características favoráveis para alimentação animal.

Palavras-chaves: Alimentação. Animal. Pastagem.

ABSTRACT

Bromatology of mutants of *Urochloa brizantha* cv. Marandú with different growth habits

Forage breeding is being developed to improve the efficiency in the use of natural resources, a better production, low costs and higher tolerance to biotic and abiotic stress, with the superior materials being evaluated for nutritional value as forage. Nowadays, several methods are being used to test the materials for bromatology as Neutral detergent fibre (NDF), Acid detergent fibre (ADF), protein and lignin. However, in some cases, the analysis need a high volume of samples, and in the case of superior plants, sometimes they are just one individual and do not allow that analysis. So, for those cases, it is imperative that the volume of the samples must be adjusted to permit a precocious and reliable analysis to speed the breeding programs and to diminish the volume of toxic waste produced. In the present work, two experiments were done with different samples. The first one to reduce the samples and reagents used for analysis, to ensure that reliable and comparable to the standard analysis, using reductions of 25, 50 and 75% of the original sample, with *Urochloa brizantha*, *U. ruziziensis* and sugarcane as models. The second experiment was done to confirm the reductions proposed in the first one, using four mutants, lines 4C, 10M₂, 3B, 15B, and the cultivar Marandu of *U. brizantha* from where the mutants were obtained by EMS mutation (Ethyl methanesulfonate). All materials in the experiment were evaluated in four phases of development, 35, 70, 105 and 140 days. The results showed that reductions for all analysis were possible and gave results with the same reliability of the original analysis. For protein, the reduction could be done until 25% of the original and just for 75% for the other analysis (NDF, ADF and lignin). In the second experiment, the line 4C did not show a significant difference in relation to all maturation phases. In the other samples, there was an effect of maturation phase in the nutritional values.

Keywords: Feeding. Animal. Grazing.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	Geral	15
2.2	Específicos	15
3	REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1	Braquiária	17
3.2.	Lignina	19
3.3	Celulose	20
3.4	Hemicelulose	20
3.5	Proteína	20
3.6	Fibras em detergente neutro (FDN - celulose, hemicelulose e lignina) e fibras em detergente ácido (FDA - celulose, lignina, proteína desnaturada e minerais).	21
4	MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1	Experimento 1	23
4.1.1	Lignina.....	23
4.1.2	Análise de proteína	23
4.1.3	Análise de FDN fibra em detergente ácido (celulose, hemicelulose, lignina, proteína desnaturada e matéria mineral).	24
4.1.4	Análise de FDA - Fibra em Detergente Ácido (Celulose e Lignina).....	26
4.2	Experimento 2	26
4.3	Análise estatística	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1	Experimento 1	28
5.1.1	Análise de lignina	28
5.1.2	Análise de proteína	30
5.1.3	Análise de FDN (celulose, hemicelulose, lignina, proteína danificada pelo calor e matéria mineral (cinzas)).	31
5.1.4	Análise de FDA (celulose, lignina, proteína danificada pelo calor e minerais) ...	32
5.2	Experimento 2	33
5.2.1	Lignina.....	33
5.2.2	Proteína.....	34

5.2.3 FDN celulose, hemicelulose, lignina, proteína danificada pelo calor e matéria mineral (cinzas)	35
5.2.4 FDA- Celulose, lignina, proteína danificada pelo calor e minerais	36
6 CONCLUSÕES	38
REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

Uma das principais metas do melhoramento de plantas é atender aos usuários das tecnologias, sejam eles produtores de grãos, sejam eles produtores de carne, gerando segurança alimentar e alimentos de maior qualidade e a um o menor custo para o consumidor final. Devido aos avanços na qualidade de vida da população, isso tem gerado um aumento da longevidade, levando assim ao um crescimento populacional relativamente alto, pois, a expectativa de vida tem aumentado ao mesmo tempo à natalidade não parou de crescer.

Algumas soluções práticas e supostamente rápidas para aumentar a eficiência dos sistemas de produção animal, com resultados que sejam simultaneamente favoráveis do ponto de vista econômico, social e ambiental tem sido implementadas, assim, a procura por fontes de alimentos mais eficientes e econômicos para serem utilizados na alimentação animal é constante.

O ruminante possui um sistema digestivo composto por cavidades pré-gástricas em que microrganismos simbióticos permitem o aproveitamento dos nutrientes contidos em alimentos fibrosos e grosseiros por meio de um processo fermentativo. Por isso, são considerados animais de grande eficiência digestiva e especialização para obter a energia necessária para seus processos fisiológicos e, conseqüentemente, para produção de produtos de interesse econômico como carne, leite e couro. Apesar de o desempenho animal ser dependente de fatores genéticos e ambientais, sabe-se que a eficiência alimentar é um fator importante no desenvolvimento dos animais.

Para a obtenção de um material de boa qualidade, pesquisadores vem estudando diversas formas para produção de alimentos que atendam todas as necessidades na nutrição animal para um produto final esperado e a um baixo custo de produção.

Devido aos testes elaborados e diversos protocolos, em muitos casos não se consegue a quantidade de matéria-prima desejada para as análises bromatológicas tendo-se apenas uma planta para ser produzida e analisada, não atingindo assim a quantidade necessária de amostra para as devidas análises laboratoriais de proteína, lignina, celulose e hemicelulose, componentes esses das plantas, os quais interferem diretamente na formação do animal e a quantidade de fibras insolúveis diretamente no trato gastrointestinal do animal dificultando o processo de absorção de nutrientes e digestão. A seleção precoce de materiais

nutricionalmente superiores pode acelerar os processos de melhoramento quando este ainda conta com poucos indivíduos, ou mesmo em plantas individuais, evitando custos de condução de populações numerosas. Assim, há a necessidade de uma redução significativa na quantidade de material a ser analisado, porém, sem diferenças significativas em relação à análise original.

Muito utilizada para alimentação e nutrição do gado, tanto para a indústria de carne e leite, as forragens do gênero *Urochloa*, são de extrema importância para o setor agropecuário. Além disso, tem se mostrado interessante para o setor agrícola por formar uma grande massa seca de decomposição relativamente lenta, o que tem incrementado o interesse da área de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta. Plantas do gênero *Urochloa* são relativamente rústicas, com fácil adaptabilidade a diferentes condições edafoclimáticas, e com um bom desenvolvimento na maior parte do ano, tendo seu desenvolvimento diminuído nas épocas de dias mais frios e com menos horas de luz, ou com restrição hídrica severa. A época de colheita da forragem, pelo corte ou pastejo, deve estar relacionada ao grau de desenvolvimento da planta, e por consequência, ao seu valor nutritivo. A lignina é um dos componentes da parede celular dos vegetais, considerada não digestível e inibidora da digestibilidade da parede celular das plantas forrageiras, se tornando mais acentuada à medida que o vegetal amadurece.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a redução das quantidades de material necessário para a análise bromatológica, utilizando-se diversos materiais para o balizamento de reduções das proporções de amostras necessárias às análises de lignina, proteína, FDN e FDA e se possível diminuir os custos com reagentes caros e tóxicos.

2.2 Específicos

- Adequar os métodos existentes para grandes volumes de forragem, para métodos que permitam a mensuração em escalas menores, como por exemplo uma única planta.

- Aferir o método utilizando-se 5 linhas mutantes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu para verificar se há diferenças dentro destes materiais e se em algum ponto do crescimento estes apresentam maiores teores de lignina.

3 REVISÃO DE LITERATURA

A pecuária brasileira é fundamentada na produção a pasto e, portanto, o melhoramento de forrageiras tem papel muito relevante para a economia do País, sendo que dos 167 milhões de ha (BEEFPOINT, 2016) aproximadamente 70% desta área é cultivada em forragens (ou 115 milhões ha, EMBRAPA, 2014), dos quais 85% são produzidos com duas forrageiras da espécie *Urochloa brizantha* cv Marandu e cv Basilisk (PEREIRA et al., 2005; EMBRAPA, 2014).

A utilização de pastagens juntamente com a iniciação e avaliação de novos cultivares de gramíneas tem ganhado uma atenção especial na experimentação com plantas forrageiras tropicais no Brasil há muito tempo. Dentre essas plantas podemos destacar a cana-de-açúcar, e os capins do gênero *Urochloa*.

O bagaço da cana-de-açúcar, resíduo da extração do caldo após esmagamento nas moendas, é o maior da agroindústria brasileira. A produtividade média estimada para a temporada 2018/19 é de 72.671 kg/ha, bem próxima da alcançada nas duas últimas safras, que foi de 72.623 kg/ha na safra 2016/17 e 72.543 kg/ha na safra 2017/18. De cada tonelada de cana moída na indústria extraímos 700 litros de caldo de cana e 300 kg de bagaço (50% MS), podendo concluir que aproximadamente das 626 milhões de toneladas de cana moída nas usinas e destilarias do Brasil (CONAB, 2018). Os constituintes da fibra das forrageiras tropicais são considerados de grande importância, por duas razões principais: 1) compreendem a grande parte da matéria seca da planta; 2) constituem a fração da planta menos digerida no trato digestivo e a mais lentamente digerida em nível de rúmen (LEÃO, 2007).

A fibra pode ser caracterizada como o componente estrutural das plantas (parede celular), a fração menos digestível dos alimentos, a fração do alimento que não é digerida por enzimas de mamíferos ou a parte do alimento que promove a ruminação e a saúde do rúmen (MACEDO JÚNIOR et al., 2007). Dentre os métodos utilizados para um material de qualidade, podemos destacar o melhoramento genético de plantas forrageiras, principalmente de espécies tropicais, ainda não atingiu o mesmo estágio de desenvolvimento obtido pelos cereais. Por isso, espera-se que o melhoramento possa desenvolver significativos avanços no aumento da produtividade pecuária, realizando o mesmo papel fundamental desempenhado pelas culturas de grãos. Também era considerado “melhoramento” a substituição da pastagem nativa por pastagens cultivadas com forrageiras exóticas, solteiras ou

consoiciadas com leguminosas tropicais, oriundas de programas de melhoria estrangeiros. O conceito de melhoria proporcionou um aumento na capacidade de suporte das pastagens, acompanhado por um aumento na qualidade da forragem, o que resultou no aumento de ganho em peso por animal e por área cultivada (VALLE et al., 2015), no entanto é necessário considerar a complexa relação solo-planta-animal. Poucos são os cultivares de forrageiras disponíveis no Brasil. A grande maioria é resultado da seleção realizada sobre acessos introduzidos ou coletados no país, e algumas, do trabalho de seleção em grandes coleções representativas da variabilidade natural. Em todos estes casos, o incremento em produção animal que se obteve, principalmente nos últimos 20 anos foi significativo e colocou o Brasil nos patamares de produção e exportação em que hoje se encontra (VALLE, 2001).

Para intensificar o potencial de produção forrageira e animal, pode-se adaptar a planta ao ambiente através do melhoria genético ou provocar uma mudança parcial no ambiente, o que se consegue utilizando eficientemente fatores como adubação, irrigação, controle de invasoras, doenças e pragas. Devido implicações técnicas e econômicas das duas alternativas, o melhoria genético se constitui na opção mais adequada, sendo uma tecnologia que necessita de pequeno investimento, quando comparado com a capacidade de retorno, além de não ser poluente e, potencialmente, de poder beneficiar o maior número de produtores, com menor risco e custo de adoção (PEREIRA, 2002).

As mutações podem ser induzidas por tratamento com mutagênicos tanto físicos, quanto químicos, por exemplo, o etilmetanossulfonato (EMS). Entre os mutagênicos químicos, o EMS é muito utilizado devido a sua facilidade de uso e potencial para produzir alta frequência de substituição de nucleotídeos, causando uma densidade relativamente alta de mutações irreversíveis (HENIKOFF; COMAI, 2003; TALEBI et al., 2012).

3.1 Braquiária

O gênero *Urochloa* (sin. *Brachiaria*), é uma gramínea perene ou anual; ereta ou decumbente; entouceirada, rizomatosa, com enraizamento nos nós inferiores em contato com o solo, denso pubescente, de coloração geralmente verde-escura, de 30 a 90 centímetros de altura (KARIA et al., 2006).

O valor nutritivo das forrageiras depende de fatores químicos, físicos e estruturais inerentes à planta, que, por sua vez, sofrem influência do meio ambiente, principalmente pelas condições edafoclimáticas (LOPES et al., 2017). O gênero *Urochloa* se destaca pela nítida capacidade de domínio ecológico em solos ácidos e com baixa fertilidade, sendo que as espécies *U. decumbens* e *U. brizantha* têm permitido a expansão para a produção animal nos cerrados (CÂMARA; SERAPHIN, 2002).

Podem ser utilizadas diretamente para pastagem direta, silagem, fenação e recentemente como produtor de cobertura morta para sistemas de plantio direto nas regiões tropicais (COSTA et al., 2014; FLÁVIO NETO et al., 2015) ou mesmo como parte de sistemas de Integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF, BALBINO et al., 2012).

As pastagens cultivadas ocupam uma área de cerca de 120 milhões de hectares, das quais 80% são representadas por capins do gênero *Brachiaria*. Uma grande parte das áreas ocupadas pelas pastagens apresenta 60% de grau de degradação (ALONSO, 2017). Em áreas de Cerrado, que responde por 60% da produção de carne do País, cerca de 80% dos 45-50 milhões de hectares com pastagens cultivadas apresentam algum grau de degradação, com capacidade de suporte inferior a 0,8 UA ha⁻¹ ano (EMBRAPA, 2013). Dentre as espécies mais cultivadas e utilizadas em regiões de Cerrado, a *U. brizantha* cv. Marandu tem apresentado alta capacidade de adaptação, sendo responsável por grande parte da alimentação do rebanho bovino criado a pasto. Trata-se de uma excelente fonte de alimento, de boa qualidade, desde que se obedeça à exigência nutricional da planta, com adubação e manejo adequado, caso contrário, perde o valor nutritivo rapidamente, principalmente após o florescimento (VALLE et al., 2000).

A maior área plantada dessa pastagem no Brasil está na Região Centro-Oeste, sujeita a grandes variações estacionais de temperatura e umidade. O período chuvoso desta região é caracterizado pela ocorrência de temperaturas e índices pluviométricos elevados, com altas taxas de evapotranspiração. Na época seca, apresenta fotoperíodo mais curto, baixas temperaturas noturnas e a baixa umidade; devido à menor pluviosidade, podem limitar o crescimento das gramíneas, promovendo assim acentuado comportamento estacional (VALLE et al., 2000).

3.2. Lignina

Lignina é um polímero derivado de unidades fenilpropanóides denominadas C_6C_3 . A maximização na produção de leite e de carne por animais ruminantes depende, principalmente, de adequado aporte de nutrientes e energia. Além de atender a vários outros pré-requisitos, é de fundamental importância a máxima utilização do potencial nutritivo dos alimentos concentrados e volumosos. O principal obstáculo à digestão microbiana dos carboidratos da parede celular é a lignina (FUKUSHIMA; HATFIELD, 2003).

A lignina é um componente não-carboidrato da parede celular dos vegetais, considerada indigestível e também inibidora da digestibilidade da parede celular das plantas forrageiras, à medida que o vegetal amadurece acentua-se a sua ação (FUKUSHIMA et al., 2000) a lignina é principal fator implicante na digestibilidade de um alimento para o animal (RIGUEIRA et al., 2017). A condensação dos chamados ácidos fenólicos leva a formação da lignina, agindo, portanto, como suas unidades precursoras. Devido a lignina pertencer a classe dos compostos fenólicos, que são conhecidos por sua capacidade de reduzir a digestibilidade dos tecidos vegetais, os seus efeitos dependem da resposta específica para cada espécie de herbívoro e do tipo de composto produzido por cada espécie vegetal em questão (AQUINO; FALCÃO; ALMEIDA-CORTEZ, 2017)

A lignina prejudica a digestão dos polissacarídeos por ser tóxica aos microrganismos do rúmen, por impedir fisicamente a digestão e pela limitação da ação de enzimas hidrolíticas (causada pela natureza hidrofóbica dos polímeros de lignina) (VISONÁ-OLIVEIRA et al., 2015). 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 microrganismos do rúmen; 2) impedimento físico causado pela ligação lignina polissacarídeo, 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.

3.3 Celulose

A celulose é um polímero linear de moléculas D-glicopirranose, unidas por ligações glicosídicas β -(1-4). As microfibrilas são formadas por agregados de cadeias de celulose interligadas por ligações de hidrogênio inter e intra moleculares entre os 8 grupos hidroxilas presentes nos resíduos de glicose que a formam. Essas interações levam a formação de regiões bem definidas (LEAL, 2015) (estrutura cristalina) que conferem grande resistência ao tecido vegetal. Estas cadeias se unem através de pontes de hidrogênio formando as microfibrilas de celulose (30 a 100 cadeias de diâmetro), sendo que o grau de cristalinidade destas fibrilas ou a presença de outros polímeros associados à matriz celulósica são de especial importância na avaliação de forragens, pois esta interação pode influenciar a suscetibilidade da molécula de celulose à hidrólise enzimática microbiana (VAN SOEST, 1994).

3.4 Hemicelulose

Coleção heterogênea de polissacarídeos (VAN SOEST, 1994). Em células maduras, as hemiceluloses encontram-se mais associadas à lignina através de ligações covalentes. As hemiceluloses são divididas em quatro subgrupos: as xilanas, as α -glicanas, as xiloglicanas e as mananas, apresentando diversidade estrutural e sendo nomeadas de acordo com o monossacarídeo predominante (MACEDO JÚNIOR et al., 2007).

3.5 Proteína

Existem três grandes grupos de proteínas que fazem parte da parede celular: as extensinas, com função estrutural, as proteínas ricas em glicina (GRPs) associadas à lignificação e as proteínas ricas em prolina (PRPs), que fazem parte da formação dos nódulos radiculares em leguminosas (MACEDO JÚNIOR et al., 2007).

Existem outros grupos menos significativos, mas que exercem funções essenciais ao desenvolvimento celular. Uma parte destas proteínas é solubilizada na determinação da fibra, outra parte, permanece como constituinte da mesma, sendo corrigida com a determinação do nitrogênio na parede celular (NIDA ou CIDA), alguns

autores mencionam que esta proteína não deve ser corrigida, pois se encontra indisponível à digestão (GIGER-REVERDIN, 1995).

O método Kjeldahl é o método-padrão de determinação de nitrogênio (N), principalmente em forragens. Ele consiste em três passos básicos, sendo eles: digestão da amostra em ácido sulfúrico com um catalisador, que resulta em conversão do nitrogênio em amônia, destilação da amônia em uma solução receptora; quantificação da amônia por titulação com uma solução-padrão (SILVA; QUEIROZ, 2002).

As proteínas e outros compostos nitrogenados são decompostos na presença do ácido sulfúrico concentrado, a quente, com produção de sulfato de amônio. O sulfato de potássio ou de sódio é adicionado, a fim de aumentar o ponto de ebulição do ácido sulfúrico, apressando a digestão. Outros compostos, como sulfato de cobre, selênio etc., também ajudam na digestão da matéria orgânica (SILVA; QUEIROZ, 2002).

O sulfato de amônio resultante, na presença da solução concentrada de hidróxido de sódio, libera amônia, que é recebida na solução de ácido bórico, titulada com ácido sulfúrico ou clorídrico de título conhecido; assim, determina-se o teor de nitrogênio da amostra. Para o cálculo da proteína bruta, basta multiplicar o resultado pelo fator 6,25 (SILVA; QUEIROZ, 2002).

3.6 Fibras em detergente neutro (FDN - celulose, hemicelulose e lignina) e fibras em detergente ácido (FDA - celulose, lignina, proteína desnaturada e minerais)

O conteúdo celular, parte solúvel, é composto basicamente de proteínas solúveis, açúcares, lipídeos, nitrogênio não proteico, pectina, amido e outros produtos também solúveis em água (GOERING; VAN SOEST, 1970). O método de determinação da qualidade de forrageiras, proposto por Van Soest (1967) e descrito por Silva e Queiroz 2002 baseia-se na obtenção dos componentes solúveis em reagentes específicos, conhecidos como detergente neutro e detergente ácido.

Denomina-se como fibra em detergente neutro (FDN) da parede celular, a porção da forragem insolúvel em detergente neutro, que é basicamente constituída de celulose, hemicelulose, lignina, proteína lignificada, cinzas e proteína danificada.

Denomina-se fibra em detergente ácido (FDA), pela metodologia de Van Soest (1967), os constituintes menos solúveis da parede celular, sendo que em seguida serão determinados: celulose, lignina, nitrogênio insolúvel em detergente

ácido (que representa o nitrogênio lignificado), cinzas insolúveis em ácido e sílica. Basicamente, a amostra é tratada com uma solução denominada detergente ácido, a qual solubiliza o conteúdo celular, a hemicelulose e a maior parte da proteína insolúvel em solução de detergente neutra. O fracionamento dos constituintes da parede celular será finalizado a partir da solubilização da lignina (VAN SOEST; WINE, 1968; PEREIRA; ROSSI, 1995).

A lignina pode ser classificada em dois grupos.

Lignina core, é derivada de ácidos hidrocínâmicos que são compostos através de ligações interresistentes a hidrólise, resistente a degradação, sendo formadas pelas três unidades citadas acima.

Ligninas não core possuem ácidos hidrocínâmicos que se unem aos polímeros da parede celular através de ligações covalentes e sendo liberados durante a hidrólise (PERES, 2018)

A preparação da lignina livre de contaminantes pode ser obtida por vigoroso tratamento, o qual gera uma modificação na estrutura da lignina (OLIVEIRA SIMÕES et al., 2001).

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente projeto foi executado em dois experimentos.

4.1 Experimento 1

Para o primeiro experimento utilizaram-se amostras de *Urochloa ruzizensis*, *U.brizantha* e cana-de-açúcar as quais foram coletadas no Campus 2 da UNOESTE, pesadas e levadas até a estufa para que fosse feito o processo de secagem sob ventilação forçada a 60°C. Após isso a amostra foi triturada em moinho de facas e armazenada a seco até as análises.

Todas as análises e os resultados foram obtidos com base em matéria seca.

4.1.1 Lignina

As amostras presentes no cadinho de Gooch, já filtradas após o processo de FDA, receberam ácido sulfúrico à 72% até ficarem completamente submersas e assim permaneceram por 3h, sendo agitadas com intervalo de 30 minutos com bastão de vidro individual. Após este procedimento, as amostras foram filtradas com água quente na bomba a vácuo e levadas a estufa a 105° C por 8h, resfriadas em dessecador e pesadas em balança analítica. Após, foram levadas para mufla a 500°C por 3h, e pesadas em balança analítica após atingirem temperatura ambiente.

4.1.2 Análise de proteína

Para a análise de proteína partindo-se de uma amostra de 0,30 g (SILVA; QUEIROZ, 2002), reduziu-se o peso inicial das amostras para 75, 50 e 25% dos valores iniciais.

As amostras foram levadas até o tubo digestor com a temperatura de 350°C e foram digeridas por 1 hora. Após resfriada, foi adicionado 15 mL de água destilada no tubo para realização do processo de destilação. No destilador devidamente limpo, foi colocado NaOH 0,4 N no copo dosador, um *erlenmeyer* com

30 mL de ácido bórico com indicador vermelho de metila foi devidamente preparado para cada amostra. A destilação foi feita por arraste, mantendo o terminal do condensador mergulhado na solução receptora até que toda a amônia fosse liberada. O volume do destilado foi de aproximadamente 75 mL. Retirou-se o *erlenmeyer* e titulou com HCl 0,1 N até a viragem do indicador misto (verde para rosa).

Após a separação das amostras, adicionou-se a mistura catalítica a base de sulfato de cobre (SILVA et al.; 2016) e o ácido sulfúrico no tubo com proporções equivalentes às amostras conforme a Tabela 1.

TABELA 1 - Quantidade de amostra e reagentes dispensadas para análise de proteína: mistura catalítica e ácido sulfúrico adicionado em cada análise.

	Porcentagem da amostra inicial			
	100	75	50	25%
Amostra (g)	0,30	0,22	0,15	0,075
Mistura catalítica (g)	0,2	0,15	0,1	0,05
Ácido sulfúrico concentrado (mL)	5	3,75	2,5	1,25

4.1.3 Análise de FDN fibra em detergente ácido (celulose, hemicelulose, lignina, proteína desnaturada e matéria mineral)

As amostras foram secas em estufa a 105° C por 48 horas, em seguida trituradas no moinho e devidamente separadas. Após esse processo pesou-se em balança analítica em papel de seda e transferiu-se para o tubo de Kjeldahl onde foram adicionadas as amostras e o detergente Neutro (Etileno diamino tetra acetato dissódico (EDTA), lauril sulfato de sódio, fosfato ácido de sódio e água deionizada) (Souza et al., 1999) proporções relacionadas na Tabela 2.

TABELA 2 - Quantidade de amostra e detergente neutro usado na análise de FDN (celulose, hemicelulose, lignina, proteína lignificada, cinzas e proteína danificada) e FDA (Celulose e Lignina)

	100%	75%	50%	25%
Amostra (g)	0,35	0,26	0,175	0,0875
Detergente neutro (mL)	35	26	17,5	8,75

Após a adição do detergente neutro nas mesmas proporções apresentadas na Tabela 2, acrescentou-se 0,05 mg de bissulfito de sódio em cada tubo, os quais posteriormente foram levados ao tubo digestor por 1h a 132°C. As amostras foram filtradas em cadinho de Gooch em bomba a vácuo. Após este processo as mesmas foram levadas a estufa 105° C por 8h e pesadas em balança analítica após resfriadas em dessecador.

O total de 0,35 g de amostra seca a 65°C foi triturada em moinho com peneira de malha 20 a 30 mm. Adicionou 35 mL de solução detergente neutra e 0,35 g de Na₂SO₃, levou-se ao bloco digestor em seguida foi colocada em funis para que os vapores se condensassem, evitando a perda de solução, e deixada em ebulição (aproximadamente 125°C) por 60 minutos. A seguir, transferiu a solução para um cadinho filtrante, previamente mantido por uma hora a 105°C e pesado (peso B), e filtrou com auxílio de vácuo, lavando o resíduo aproximadamente três vezes com água fervente ou até não haver mais presença de espuma. Em seguida, lavou-se duas vezes com 40 mL de acetona. Os cadinhos foram levados para estufa de secagem a 105°C contendo o resíduo até peso constante e transferidos para dessecador contendo sílica-gel. Quando atingiu a temperatura ambiente a pesagem foi efetuada em balança analítica. A porcentagem dos constituintes da parede celular ou fibra em detergente neutro, com base na matéria seca a 65°C, é obtida por meio da diferença entre as pesagens, ou seja:

$$\text{FDN (\%)} = ((C - B) \times 100) / A$$

Sendo: A o peso da amostra em gramas, B o peso do cadinho vazio e C o peso do cadinho mais o resíduo.

4.1.4 Análise de FDA - Fibra em Detergente Ácido (Celulose e Lignina)

As amostras foram reduzidas de acordo com a Tabela 3 como alternativas para a metodologia padrão.

Após a adição do detergente ácido (Brometo de cetil trimetilamônio (CTAB)), Acetona, Deca-hidronaftaleno (decalina) e solução de ácido sulfúrico 0,5 mol. L⁻¹, os tubos foram levados ao bloco digestor por 1h na temperatura de 132 °C. As amostras foram filtradas em cadinho de Gooch com o auxílio de vácuo, e em seguida levadas à estufa a 105 °C por 8h, após o processo de resfriamento em dessecador foram devidamente pesadas em balança analítica.

4.2 Experimento 2

Cinco amostras de diferentes materiais genéticos foram utilizadas, o controle e quatro mutantes selecionados de um processo de mutação induzida por EMS (ethylmethane sulfonate). As sementes foram escarificadas com ácido sulfúrico, lavadas e tratadas com fungicida. A semeadura foi feita em bandeja com substrato e após a germinação cada amostra foi transferida para 20 vasos de 18 litros, com terra analisada e corrigida. Os vasos foram colocados na casa de vegetação 1 Campus II da UNOESTE.

Após 35, 70, 105 e 140 dias após plantio, as plantas foram coletadas 25 cm acima do solo, acondicionadas em sacos de papel e levadas para o laboratório de bromatologia no Bloco Q da UNOESTE, localizado no Campus 2 para a análise. As amostras foram pesadas e secas em estufa com ventilação forçada a uma temperatura de 60 graus por 48 horas. Após isso as amostras, foram pesadas novamente e em seguida trituradas no moinho.

Todas as análises deste experimento: proteína, FDN, FDA e Lignina foram feitas utilizando-se as recomendações do experimento um.

4.3 Análise estatística

Ambos experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições cada um deles. Os dados coletados foram submetidos

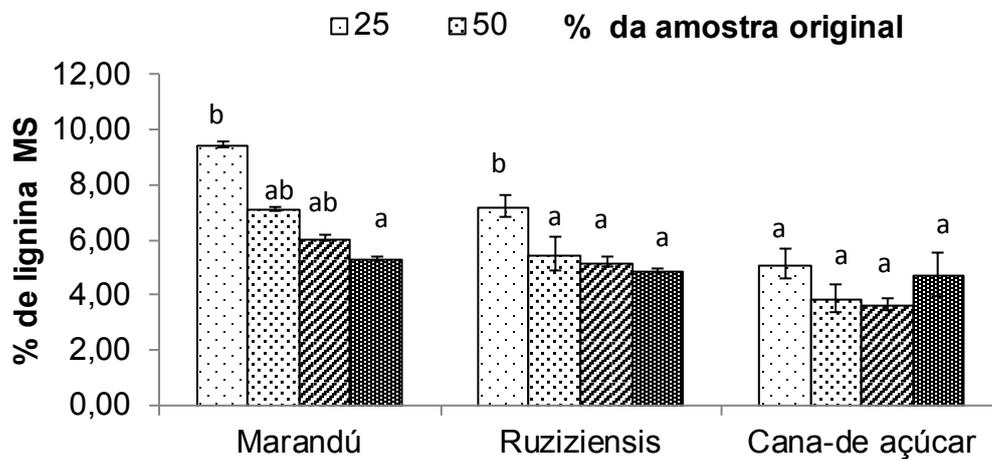
à análise de Variância, por de acordo com a redução de amostra e espécie do material pelo software SISVAR (FERREIRA, 2011).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Experimento 1

5.1.1 Análise de lignina

Figura 1 - Teores de lignina, com base em matéria seca, em quatro espécies forrageiras submetidas à análise com diferentes quantidades de amostras e de soluções extratoras.



Colunas seguidas por letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Fonte: Autor.

Os teores de lignina (%LGN) em *U. brizantha* cv. Marandú foram de 9,47; 7,13; 6,07 e de 5,32 %LGN, para as variações de 25, 50 75 e 100% dos valores da amostra original, sendo que as variações de 25, 50 e 75% não diferiram estatisticamente entre si. A amostra completa diferiu das amostras com 25 e 50% da quantidade inicial, mas não diferiu da amostra a 75% do inicial.

Para *U. ruziziensis* os valores de lignina observados respectivamente para as amostras de 25, 50, 75 e 100% da amostra original foram de 4,90; 5,22; 5,50 e de 7,23 %LGN, sendo que as três amostras reduzidas não diferiram entre si. Mauri et.al. (2005) obteve o valor de 13,41 %LGN ao fazer análise bromatológica de *U. ruziziensis* cv. Kennedy, utilizando 100% do conteúdo amostral.

Em cana-de-açúcar não houve uma diferença significativa nas diferentes concentrações da amostra inicial (Figura 1). Carvalho et al. (2006) após testes feitos

no bagaço de cana-de-açúcar encontraram o valor de 7,34 %LGN, número bem próximo ao encontrado no presente trabalho. Silva e Rodrigues (2010) ao analisarem a cana-de-açúcar encontraram um total de 26,87 %LGN, resultados encontrados com 100% do total amostral, essa diferença se deve provavelmente ao estágio de maturação da amostra.

Os valores de lignina estão diretamente ligados aos teores de celulose, o teor de lignina pode variar de acordo com o estágio de maturação da amostra, manejo e até mesmo o tipo de adubação utilizada.

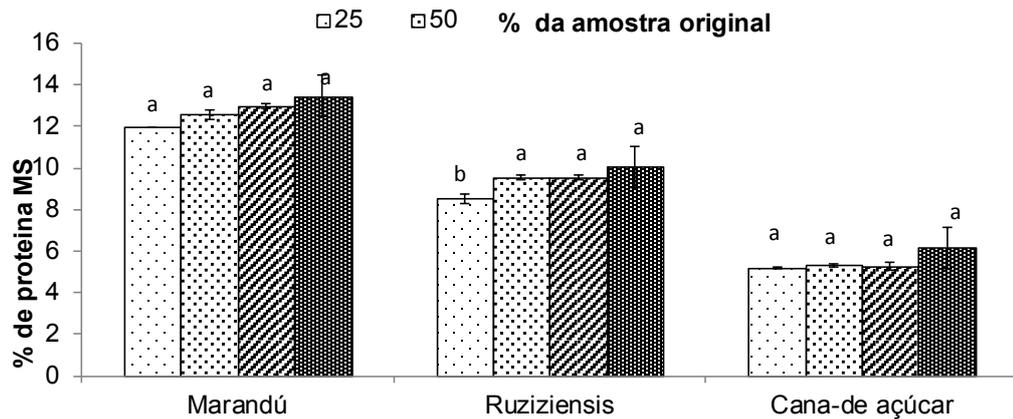
Pode ser observado nos resultados acima, que os valores encontrados nas amostras podem ser reduzidos para o cv Marandú, cana-de-açúcar até 25% ($p > 0,17$) sem alterações significativas nos resultados encontrados para o teste de FDA (celulose, lignina, proteína danificada pelo calor e minerais). Já nos testes de FDN as amostras de *U. brizantha* cv. Marandú podem ser reduzidas até 75% ($p > 0,0001$). Os valores encontrados nas análises de lignina podem ser reduzidos até 75% da amostra total ($p > 0,001$). O FDA pode ser reduzido sem variação significativa nas amostras.

Nos testes de lignina, observou-se que nas plantas de Marandú as amostras podem ser reduzidas sem modificação nos resultados até 75%, já na cana-de-açúcar não se deve reduzir as amostras.

De maneira geral, os resultados mostram a viabilidade da utilização do procedimento proposto no presente projeto, pois, há um aumento significativo de rendimento da amostra, diminui custos com energia, reagentes e mão-de-obra especializada, a quantidade de resíduos laboratoriais também obteve uma redução, sem afetar a qualidade e a credibilidade dos resultados obtendo um resultado esperado.

5.1.2 Análise de proteína

Figura 2 - Teores de proteínas com base em matéria seca, em quatro espécies forrageiras submetidas à análise com diferentes quantidades de amostras e de soluções extratoras.



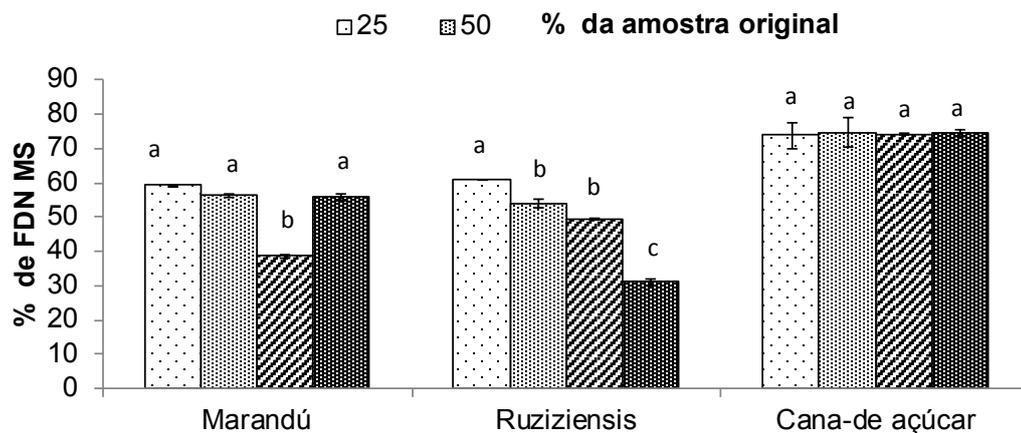
Colunas seguidas por letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Fonte: Autor.

Para *Uruchloa brizantha* observaram-se os seguintes valores para a análise de proteína 11,96; 12,56; 12,95 e 13,47 %PB para as reduções para 25, 50, 75 e 100% da amostra original respectivamente. Para *U. ruziziensis* os valores foram de 8,52; 9,54; 9,57 e 10,07 %PB para as reduções para 25, 50, 75 e 100% da amostra original (Figura 2). Pariz et al. (2011) obteve o valor de 10,54 %PB em amostras de *U. ruziziensis* analisando 100% da amostra.

Para cana-de-açúcar foram observados os valores de 5,20, 5,32, 5,28 e 6,17 %PB para os valores de 25, 50, 75 e 100% o valor original da amostra (Figura 2). Resultados diferentes foram encontrados por Carvalho et al. (2006) avaliando os teores de proteína bruta com base em matéria-seca, obtendo o resultado de 2,32%PB.

5.1.3 Análise de FDN (celulose, hemicelulose, lignina, proteína danificada pelo calor e matéria mineral (cinzas)).

Figura 3 - Teores de FDN (celulose, hemicelulose, lignina, proteína danificada pelo calor e matéria mineral (cinzas) com base em matéria seca, em quatro espécies forrageiras submetidas à análise com diferentes quantidades de amostras e de soluções extratoras.



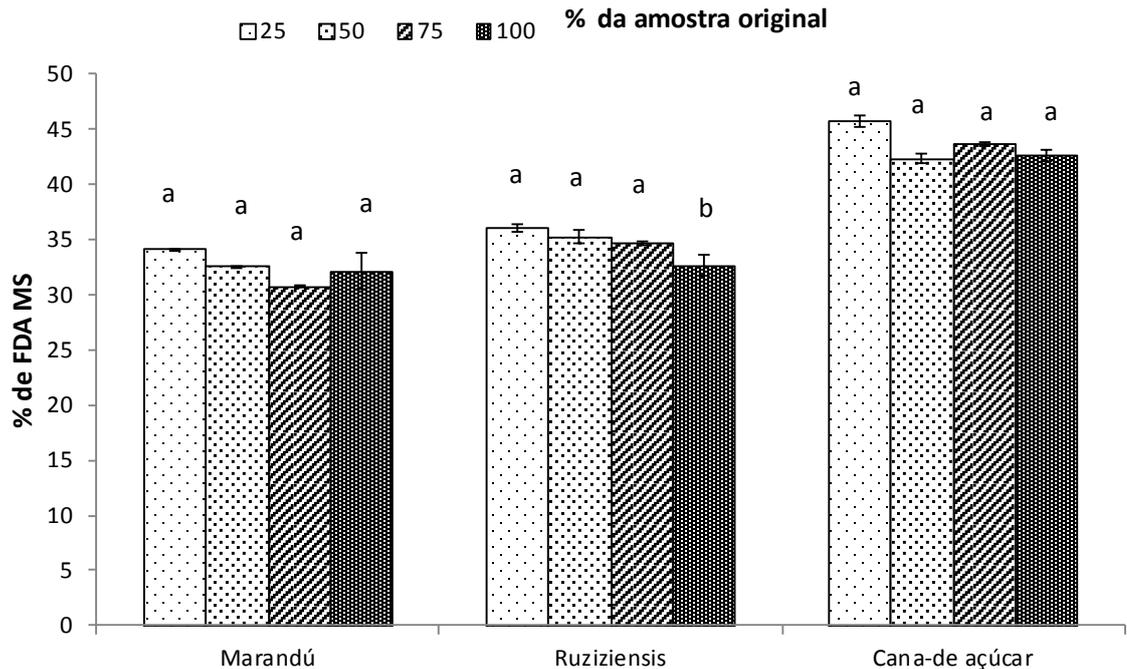
Colunas seguidas por letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Fonte: Autor.

Diante dos dados descritos na Figura 3 pode-se observar que os teores de FDN sofreram alterações para *Urochloa brizantha* sendo de 59,22; 56,23; 38,66 e 55,73 de %FDN respectivamente para as variações de 25, 50 75 e 100% da massa da amostra inicial do protocolo. Geron et al. (2014) em amostras de *U. brizantha* encontraram o total de 70,80 %FDN. Para as amostras de *U. ruziziensis* os valores foram de 60,77, 54,08; 49,36 e 74,33 %FDN para as reduções de 25, 50 75 e 100% do valor da amostra inicial. Van Soest (1994) determinou um valor de 74,17 %FDN para a mesma espécie.

Para cana-de-açúcar os valores obtidos foram de 73,89, 74,81, 74,19 e 74,33 %FDN, para as reduções de 25, 50, 75 e 100% de massa proposta no protocolo inicial (Figura 3). Carvalho et al. (2006) ao analisar cana-de-açúcar chegou ao valor de 59,02 %FDN ao analisar amostra com massa total de 100%.

5.1.4 Análise de FDA (celulose, lignina, proteína danificada pelo calor e minerais)

Figura 4- Teores de celulose, lignina, proteína danificada pelo calor e minerais(FDA) com base em matéria seca, em quatro espécies forrageiras submetidas à análise com diferentes quantidades de amostras e de soluções extratoras.



Colunas seguidas por letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Fonte: Autor.

Em *U. brizantha* cv. Marandú os valores obtidos para %FDA foram de 34,12; 32,55; 30,74 e 32,13 para 25, 50, 75 e 100% da amostra original. Resultado semelhante foi apresentando por Pariz et al. (2011) analisando o FDA da planta *Urochloa brizantha* cv Marandú. os quais exibiram 29,13 %FDA (Figura 4).

Para *U. ruziziensis* os valores foram de 36,05; 34,24; 34,69 e 32,64% FDA para as reduções de 25, 50, 75 e 100% da amostra inicial (Figura 4).

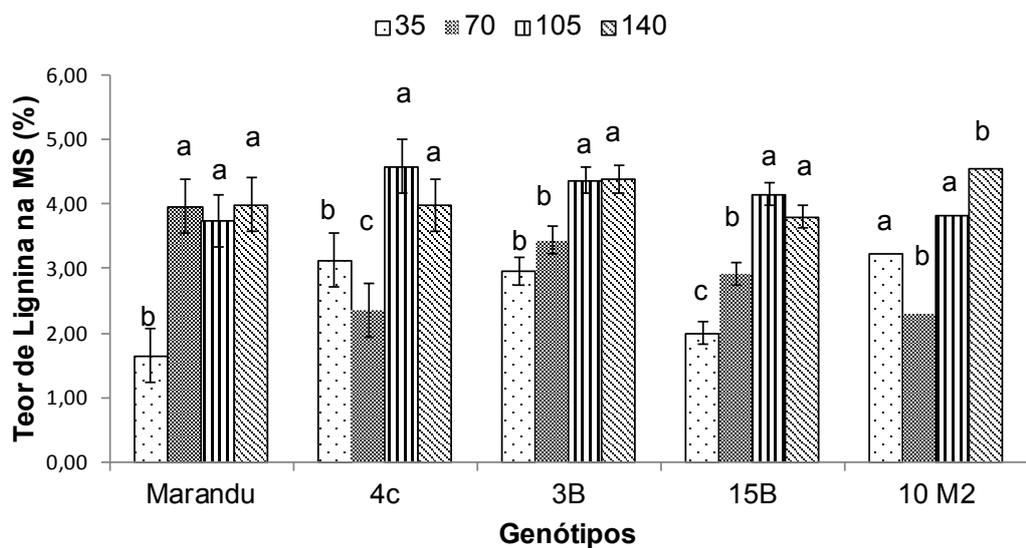
Em cana-de-açúcar os valores foram encontrados foram de 45,68; 42,35; 36,08 e de 42,66 %FDA para as proporções de 25, 50, 75 e 100% da amostra inicial (Figura 4). Carvalho et. al (2003) determinou 49,04 %FDA para cana-de-açúcar.

5.2 Experimento 2

Os dados das análises podem ser visualizados nas Figuras 5 a 8. Foram analisadas as amostras controle, descritas com a letra T e as amostras mutantes 15B, 4C, 3B e 10M₂. Em todas as amostras foram feitos 4 cortes em diferentes estágios de maturação (intervalo de 35 dias com a finalidade de simular o tempo de pastejo).

5.2.1 Lignina

Figura 5 - Teores de lignina com base em matéria seca nas amostras de *Urochloa brizantha* cv. Marandú nos materiais derivados por mutação com EMS.



Colunas seguidas por letras iguais com o mesmo padrão, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

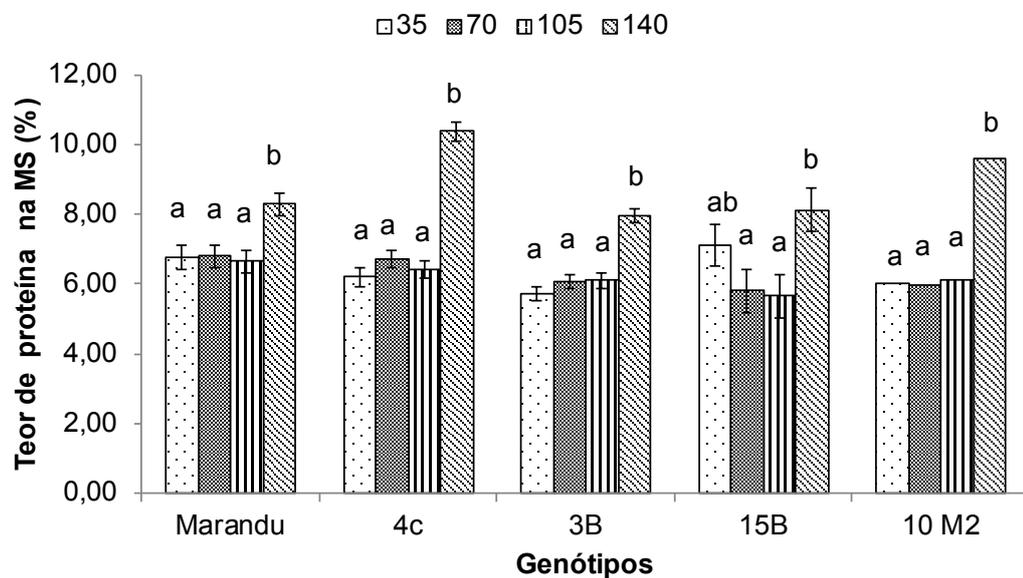
Fonte: Autor.

A lignina teve a menor concentração na planta controle após 35 dias do processo de semeadura seguida da amostra 15B também com 35 dias de maturação. A maior concentração de lignina foi encontrada na amostra 4C após 105 dias de cultivo (Figura 5). Brito et al. (2003) destacaram que as gramíneas, em geral, depositam maior quantidade de lignina, à medida que os tecidos que compõem as frações vão envelhecendo. Esta tendência foi confirmada no presente estudo, onde podemos observar uma elevação na quantidade de lignina nos diferentes graus de maturação e nos diferentes acessos mutantes, maiores variações na concentração de

lignina são observadas quando se comparam diferentes espécies de gramíneas e leguminosas e quando se observam os efeitos do envelhecimento dos tecidos vegetais (JUNG et al., 1993; DESCHAMPS, 1999). Fernandes et al. (2010) encontrou o total de 5,1 % LGN.

5.2.2 Proteína

Figura 6 - Teores de proteínas com base em matéria seca nas amostras de *Urochloa brizantha* cv. Marandú nos materiais derivados por mutação com EMS.



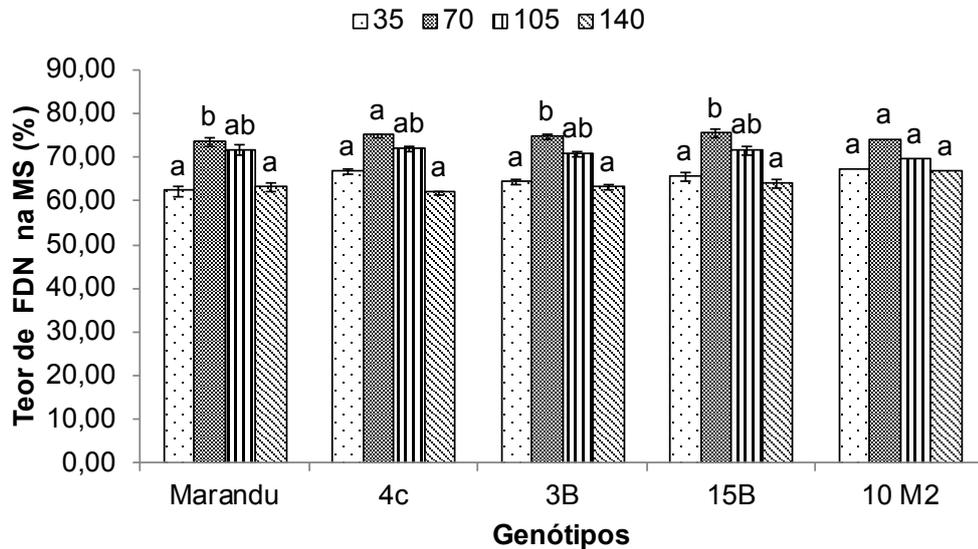
Colunas seguidas por letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Fonte: Autor.

Pode-se observar que a quantidade de proteína é menor na amostra 15B com 105 dias após o plantio e a amostra com maior teor de proteína localiza-se na amostra 4C no com 105 dias (Figura 6).

O avanço da idade da planta forrageira resulta em incrementos nos componentes da parede celular e queda nos teores de proteína bruta (KOLLET et al., 2006).

Desta forma, como afirmam Rodrigues et al. (2008), o método de adubação da planta interfere diretamente do teor de proteína bruta e este fator depende da idade da planta, bem como do manejo adotado.

Figura 7 - Teores de celulose, hemicelulose, lignina, proteína lignificada, cinzas e proteína danificada (FDN) com base em matéria seca nas amostras de *Urochloa brizantha* cv. Marandú nos materiais derivados por mutação com EMS.



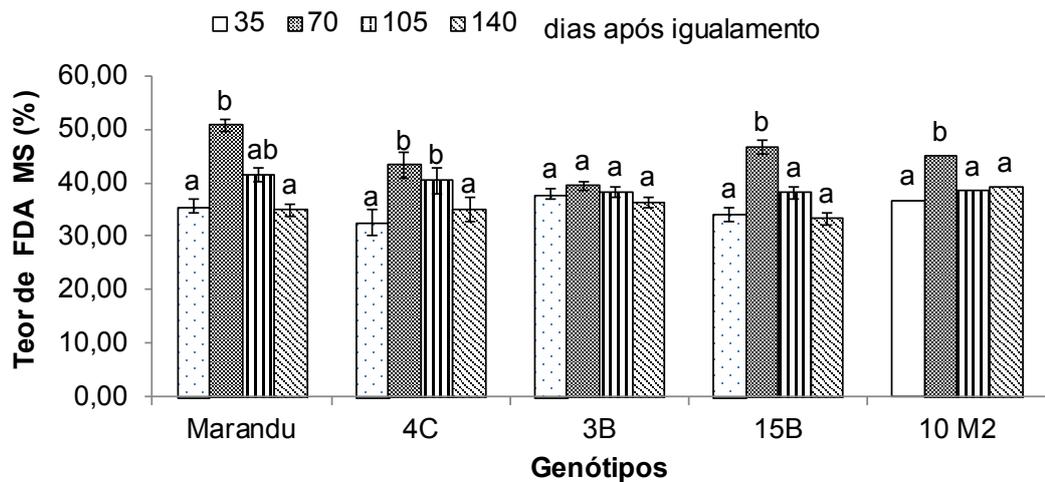
Colunas seguidas por letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Fonte: Autor.

5.2.3 FDN celulose, hemicelulose, lignina, proteína danificada pelo calor e matéria mineral (cinzas)

Os teores de lignina e celulose encontrados nas análises de FDN apresentado na Figura 7 mostram que de maneira geral, as plantas apresentam maior concentração no corte com 70 dias, a amostra que apresentou maior teor de celulose e lignina foi a amostra controle de Marandú com 70 dias de maturação, seguida da amostra 15B no mesmo estágio de crescimento. A amostra com menor teor de FDN foi a 4C com 140 dias, mas de maneira geral os dados encontrados nos cortes de 35 dias, não diferem de forma significativa dos cortes com 140 dias de maturação.

5.2.4 FDA- Celulose, lignina, proteína danificada pelo calor e minerais

Figura 8 - Teores de celulose, lignina, proteína lignificada, cinzas e proteína danificada (FDA) com base em matéria seca nas amostras de *Urochloa brizantha* cv. Marandú nos materiais derivados por mutação com EMS.



Colunas seguidas por letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Fonte: Autor.

Os teores de celulose, hemicelulose, lignina e matéria mineral, encontrados na análise de FDA tiveram maior concentração na planta 15B com um período de maturação de 70 dias e o acesso com menor concentração foi a 4C após 140 dias de plantio (Figura 9).

A quantidade de celulose, hemicelulose e lignina foram menores na amostra 4C em seu primeiro corte realizado com 35 dias após o plantio, isso provavelmente se deve ao tempo de crescimento e maior no segundo corte (70 dias após o plantio) da amostra controle representada no gráfico pela letra T. A FDA é constituída, basicamente, por celulose e lignina, e correlaciona-se de forma inversa com a digestibilidade da forrageira à medida que seu teor aumenta na planta. Entretanto, esta associação linear negativa naturalmente depende de diversos fatores, entre os quais citam-se a espécie forrageira, o clima, o solo e ainda, o manejo aplicado (VAN SOEST, 1994).

A concentração de FDN é o componente mais consistentemente associado ao consumo da forragem (VAN SOEST, 1994).

Muller et al. (2006) afirmaram que o acréscimo no teor de fibra em função da maturidade da planta, destaca que ocorre pois com o avanço do ciclo vegetativo, acontecem um aumento no teor de lignina e no espessamento da parede celular nos tecidos da planta, diferente do presente trabalho onde os teores de FDA foram analisados em diferentes períodos de maturação e o valor de FDA teve alterações significativas nos materiais coletados com 70 dias e 105 dias Santos, Silva e Chaves (2008) encontraram, em capim-Marandu irrigado, o valor de 40,2% e não irrigado 42,9%, ficando próximos aos 34% de FDA observados por Costa et al. (2007) na planta inteira do capim *B. brizantha* cv. MG-5, entre 20 e 30 dias de idade, em experimento conduzido em um Argissolo Vermelho-Amarelo eutrófico em casa de vegetação, no presente trabalho o valor de FDA pode ser comparado nos acessos tendo valores coerentes no controle e nas mutantes tendo uma porcentagem aproximadamente de 36%. A FDA é um indicativo da digestibilidade e valor energético da forragem, sendo que quanto menor a FDA, maior será o valor energético da planta.

6 CONCLUSÕES

As reduções das amostras podem ser efetuadas, permitindo a redução de reagentes e do conteúdo amostral para as análises de hemicelulose, celulose e lignina na proporção de 50% e das amostras para proteína pode se reduzida em até 25% do valor inicial, sem alteração significativa nos resultados obtidos.

Com as reduções executadas podem-se avaliar os materiais derivados por mutação com EMS. O maior teor de proteína foi encontrado no mutante 4C com 140 dias de maturação, o qual também apresentou a menor concentração de fibra nesta avaliação. Em todos os mutantes, a quantidade de celulose e lignina foi menor no período de 35 dias e de 140 dias.

O mutante mais indicado para o consumo segundo as análises realizadas no presente trabalho é o 4C, pois, não possui alteração significativa de lignina diante os estágios de maturação, apresentando também uma boa quantidade de proteína em todos os cortes, intensificado no último corte com 140 dias de maturação.

REFERÊNCIAS

- ALONSO, R. A.; DA COSTA, L. V. C. Caracteres agronômicos de *B. brizantha* cv. Xaraés (MG5), sob diferentes doses de biofertilizante de dejetos de bovino leiteiro. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 11, n. 4, p. 400-411, 2017.
- AQUINO, R. E.; FALCÃO, H. M.; ALMEIDA-CORTEZ, J. S. Variação nas concentrações de compostos fenólicos e nas taxas de herbivoria em *Aspidosperma pyrifolium* Mart. em áreas antropizadas de Caatinga. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, v. 2, n. 1, p. 61-71, 2017.
- BALBINO, L. C. et al. Agricultura sustentável por meio da integração lavoura-pecuária-floresta (iLPF). **Informações Agronômicas**, v.138, p.1-18, 2012.
- BARCELLOS, A. O. et al. Produção animal a pasto: desafios e oportunidades. In: ENCONTRO NACIONAL DO BOI VERDE: A PECUÁRIA SUSTENTÁVEL, 3., 2001, Uberlândia, MG. **Anais...** Uberlândia: Sindicato Rural de Uberlândia, p. 29-64, 2001.
- BEEFPOINT. **Relatório anual – Perfil da pecuária no Brasil**. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/cadeia-produtiva/giro-do-boi/perfil-da-pecuaria-no-brasil-relatorio-anual-2016>>. Acesso em : 27 abr 2016.
- BRITO, C. J. F. A. et al. Perfil químico da parede celular e suas implicações na digestibilidade de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 1835-1844, nov./dez. 2003.
- BUXTON, D. R.; RUSSEL, J. R. Lignin constituents and cell wall digestibility of grass and legume stems. **Crop Science**, Madison, v. 28, n. 3, p. 553-558, Jul. 1987.
- CÂMARA, H. H. L. L.; SERAPHIN, E. S. Germinação de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu sob diferentes períodos de armazenamento e tratamento hormonal. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 32, n.1, p. 21-28, 2002.
- CARVALHO, G. G. P. et al. Valor nutritivo do bagaço de cana-de-açúcar amonizado com quatro doses de uréia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 1, p. 125-132, jan. 2006.
- COSTA, K. A. P. et al. Efeito da estacionalidade na produção de matéria seca e composição bromatológica da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 6, n. 3, p. 187-193, jul./set. 2005.
- COSTA, K. A. P. et al. Intervalo de corte na produção de massa seca e composição química-bromatológica da *Brachiaria brizantha* cv. MG-5. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1197-1202, jul./ago., 2007.
- DESCHAMPS, F.C. Implicações do período de crescimento na composição química e digestão dos tecidos de cultivares de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, n. 6, p. 1358-1369, 1999.

EMBRAPA. Monitoramento Por Satélite. **SOMABRASIL: Sistema de Observação e Monitoramento da Agricultura no Brasil.** 2014.

FERNANDES, L. O.; REIS, R. A.; PAES, J. M. V. Efeito da suplementação no desempenho de bovinos de corte em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n.1, jan./feb. 2010.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FLÁVIO NETO, J. et al. Biological soil loosening by grasses from genus *Brachiaria* in crop-livestock integration. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.37, n.3, 375-383, 2015.

FREITA, C. M. et al. Caracterização de cinzas, lignina, celulose e hemicelulose em bagaço de sorgo e cana-de-açúcar. **Ciência & Tecnologia**, Jaboticabal, v. 8, n. esp., 2016.

FUKUSHIMA, R. S. et al. Extração da lignina e emprego da mesma em curvas de calibração para a mensuração da lignina em produtos vegetais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, p. 1302-1311, 2000.

FUKUSHIMA, R. S.; HATFIELD, R. D. Composição fenólica de ligninas dioxano determinadas pela reação oxidativa com o nitrobenzeno. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Piracicaba, v. 38, n. 3, p. 373-378, 2003.

GERON, L. J. V. et al. Avaliação do teor de fibra em detergente neutro e ácido por meio de diferentes procedimentos aplicados às plantas forrageiras. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 3, p. 1533-1542, 2014.

GIGER-REVERDIN, S. Review of the main methods of cell wall estimation: interest and limits for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, Asterdam, v. 55, n. 4, p.295-334, 1995.

GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. Forage fiber analyses: apparatus, reagents, procedures and some applications. **USDA Agriculture Handbook**, Washington, 20 p. 1970.

HENIKOFF, S.; COMAI, L. Single-nucleotide mutations for plant functional genomics. **Annual Review of Plant Biology**, 54, 375-401. 2003.

JUNG, H. G. et al. Forage cell wall structure and digestibility. **American Society for Agronomy**, Madison, p.133-163, 1993.

KARIA, C. T.; DUARTE, J. B.; ARAÚJO, A. D. **Desenvolvimento de cultivares do gênero *Brachiaria* (Trin.) Griseb. no Brasil.** Planaltina: Embrapa Cerrados, 2006.

KOLLET, J.L. DIOGO, J. M. S.; LEITE, G. G. **Rendimento forrageiro e composição bromatológica de variedades de milho (*Pennisetum glaucum* (L.) R. BR.).** 2006.

LAPIERRE, C. Application of new methods for the investigation of lignin structure. In: **Forage cell wall structure and digestibility.** Madison, 1993. , p. 133-166.

- LEAL, T. F. **Potencial do *Trichoderma deliquescens* J-7 para produção de celulases e hemicelulases destinada a sacarificação e branqueamento da polpa kraft**. 2015. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, 2015.
- LEÃO, V. P.C. **Feno da parte aérea da mandioca associado a mistura da cana-de-açúcar e uréia para ovinos**. Vitória da Conquista: UESB, 2007.
- LOPES, C. M. et al. Massa de forragem, composição morfológica e valor nutritivo de capim-braquiária submetido a níveis de sombreamento e fertilização. **Embrapa Gado de Leite-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2017.
- MACEDO JÚNIOR, G. L. et al. Qualidade da fibra para a dieta de ruminantes. **Ciência Animal**, v. 17, n. 7, 2007.
- MACEDO JÚNIOR, G. L. et al. Qualidade da fibra para a dieta de ruminantes. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 17, n. 1, p. 7-17, 2007.
- MALAFAIA, P. A. M. et al. Determinação das frações que constituem os carboidratos totais e da cinética ruminal da fibra em detergente neutro de alguns alimentos para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 27, n. 4, p. 790-796, 1998.
- MAURI, J. et al. Forage quality in cultivars of *Brachiaria* spp.: Association of lignin and fibers with anatomical characteristics. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 12, p. 1148, 2015.
- McDOUGALL, G. J.; MORRISON, I. M.; STEWART, D. Plant fiber: chemistry and processing for industrial use. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Hoboken, v. 62, n. 1, p. 1-20, 1993.
- MERTENS, D. R. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 64, n. 5, p. 1548-1558, 1987.
- MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. R.; PILÓ-VELOSO, D. Studies of *Eucalyptus grandis* lignin and polyphenols content in *Eucalyptus grandis* by infrared spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v. 2, p.129-131, 1991.
- MULLER, R. L. et al. Obtenção e caracterização de compósitos de polipropileno pós-consumo com fibras de cana-de-açúcar com e sem tratamento químico. In: **Congresso brasileiro de engenharia e ciência dos materiais**, 17. 2006.
- OLIVEIRA SIMÕES, S. E. et al. Ligninas: métodos de obtenção e caracterização química. **Ciência Rural**, v.31, n.5, p.917-928, 2001.
- PARIZ, C. M. et al. Produção, composição bromatológica e índice de clorofila de braquiárias após o consórcio com milho. **Archivos de Zootecnia**, Cordoba, v. 60, n. 232, p. 1041-1052, 2011.
- PEREIRA, A. V. et al. Selection of interspecific *Brachiaria* hybrids to intensify milk production on pastures. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 5, p. 99-104, Mar. 2005.

PEREIRA, A.V. Avanços no melhoramento genético de gramíneas forrageiras tropicais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39, 2002. Recife. **Anais...** SBZ. Recife. p. 19-41. 2002.

PEREIRA, J. R. A.; ROSSI, P. **Manual prático de avaliação nutricional de alimentos**. Piracicaba: FEALQ., 25p. 1995.

PERES, L. G. S. **Obtenção e caracterização de compósitos poliméricos de polietileno de baixa densidade com fibra de coco**. 2018. Trabalho (Conclusão de Curso) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2018.

RIGUEIRA, J. P. S. et al. Composição química e digestibilidade in vitro de tortas da macaúba. **Unimontes Científica**, v. 19, n. 2, p. 62-72, 2017.

RODRIGUES, R. C. et al. Produção de massa seca, relação folha/colmo e alguns índices de crescimento do *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés cultivado com a combinação de doses de nitrogênio e potássio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, p. 394-400, 2008.

SANTOS, N.L.; DA SILVA, M.W.R.; CHAVES, M.A. Efeito da irrigação suplementar sobre a produção dos capins Tifton 85, Tanzânia e Marandu no período de verão no sudoeste baiano. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 911-922, 2008.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos** (métodos químicos e biológicos). 3. ed. Viçosa: UFV, 2002. 235 p.

SILVA, F.S. et al. Estudo de diferentes condições de preparo de amostra na determinação de nitrogênio total pelo método de kjeldahl. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 10, n. 2, p. 07-20, 2016.

SILVA, M. A.; RODRIGUES, A. A. Composição bromatológica da cana-de-açúcar como forrageira em função da altura de corte e da época de colheita. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 5, n. 4, p. 621-626, 2010.

SNIFFEN, C. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, Nov. 1992.

SOUZA, G. B. et al. Método alternativo para a determinação de fibra em detergente neutro e detergente ácido. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Embrapa Pecuária Sudeste, 1999.

TALEBI, A. B. et al. Ethyl methane sulphonate (EMS) induced mutagenesis in malaysian rice (cv. MR219) for lethal dose determination. **American Journal of Plant Sciences**, v.3, p.1661-1665, 2012.

THIAGO, L. R. L. S.; GILL, M. **Consumo voluntário**: fatores relacionados com a degradação e passagem da forragem pelo rúmen. Campo Grande: EMBRAPA, 1993. 65 p. (Documentos Embrapa; 43)

- VALLE, C. B. et al. Características das plantas forrageiras do gênero *Brachiaria*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 17. Piracicaba, 2000. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, p. 65-108, 2000.
- VALLE, C. B. et al. O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. **Ceres**, v. 56, n. 4, 2015.
- VALLE, C.B. Genetic resources for tropical areas: achievements and perspectives. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19. **Proceedings...** FEALQ. São Pedro. CD-ROM. Theme12. Forage Breeding and Genetics. Plenary paper. 2001.
- VAN SOEST, P. J. Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 26, n. 1, p. 119-128, 1967.
- VAN SOEST, P. J.; WINE, R. H. Determination of lignin and cellulose in acid-detergent fiber with permanganate. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 51, p.780-785, 1968.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminants**. 2. ed. Ithaca, NY: Cornell University, 1994. 476p.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminants**. Corvallis, Oregon: O & Books, 1982. 373 p.
- VICTORIA, D. C. et al. Integração de bases de dados e desenvolvimento de aplicações específicas para a Secretária de Políticas Agrícolas. **Embrapa Monitoramento por Satélite-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2013.
- VISONÁ-OLIVEIRA, M. et al. Nutrients intake and digestibility of palm kernel cake in sheep diet. **Ciência Animal Brasileira**, v. 16, n. 2, p. 179-192, 2015.
- WHITE, J. S. et al. Forage sorghum dry matter disappearance as influenced by plant part proportion. **Animal Feed Science and Technology**, Oxford, v. 33, n. 3-4, p. 313-322, Jun. 1991.