

LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS: POTENCIAL  
FISIOLÓGICO DE SEMENTES PARA IMPLANTAÇÃO POR  
BOVINOS EM PASTAGENS

**BRUNO BORGES DEMINICIS**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
AGOSTO - 2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS: POTENCIAL  
FISIOLÓGICO DE SEMENTES PARA IMPLANTAÇÃO POR  
BOVINOS EM PASTAGENS

**BRUNO BORGES DEMINICIS**

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal”.

Orientador: Prof. Henrique Duarte Vieira  
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
AGOSTO – 2009

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCTA / UENF** 080/2009

Deminicis, Bruno Borges

Leguminosas forrageiras tropicais: potencial fisiológico de sementes para implantação por bovinos em pastagens / Bruno Borges Deminicis. – 2009.  
143 f. : il.

Orientador: Henrique Duarte Vieira  
Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.  
Bibliografia: f. 114 – 143.

1. Germinação 2. Viabilidade 3. Digestão ácido-enzimática 4. Digestão ruminal 5. Dispersão de sementes I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD – 633.2

LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS: POTENCIAL FISIOLÓGICO DE  
SEMENTES PARA IMPLANTAÇÃO POR BOVINOS PARA A RECUPERAÇÃO  
DE PASTAGENS

**BRUNO BORGES DEMINICIS**

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal”.

Aprovada em 27 de agosto de 2009.

Comissão Examinadora:



---

Prof. Dr. João Batista Rodrigues de Abreu (D. Sc., Agronomia) – UFRRJ



---

Prof. Dr. João Carlos de Carvalho Almeida (D. Sc., Zootecnia) – UFRRJ



---

Prof. Dr. Roberto Ferreira da Silva (PhD., Horticultura) - UENF



---

Prof. Dr. Henrique Duarte Vieira (D. Sc., Produção Vegetal) – UENF  
Orientador

*"O importante é não parar de fazer perguntas"*

*Theodore Roosevelt*

*"Faça o que puder, com o que tiver, onde estiver."*

*Albert Einstein*

*"A grandeza não consiste em receber honras, mas em merecê-las."*

*Aristóteles*

*"Acredito muito na sorte, verifico que quanto mais trabalho mais a sorte me sorri"*

*Thomas Jefferson*

YHVH

A *Deus,*

Aos meus pais *Agostinho e Maria Lucía,* pelo amor sem medida, apoio, confiança sempre em mim depositada e exemplo de vida que são.

Ao meu irmão *Rafael B. Deminícis.*

À minha namorada, meu verdadeiro amor, *Júlia G. Jardim.*

A minha afilhada *Isabele Borges.*

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por nunca faltar em minha vida.

Aos meus pais, por terem me emprestado seus genes e gênios, além de sugestões valiosas e que sendo atentos e observadores, sempre souberam frear os meus ímpetos e me apoiar nos momentos difíceis, sempre me dando forças em todas as circunstâncias.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense, ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, pela oportunidade de realização do curso e por te me recebido de portas abertas. Fazendo-me compreender de fato que um Livro certamente não se lê pela capa.

Em especial agradeço ao Prof. Dr. HENRIQUE DUARTE VIEIRA, meu amigo e orientador, por ter me proporcionado todo tipo de condição para seguir no desenvolvimento deste estudo, apoio moral e por ter permitido que eu pudesse mostrar e demonstrar o quanto se pode fazer pesquisa inovadora em Produção Vegetal neste País. Além de estar ao meu lado em todas e desgastantes missões no Conselho Universitário da UENF e na Câmara Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, nunca fugindo da raia.

Ao Prof. Dr. JOÃO CARLOS e ao Prof. JOÃO BATISTA, pela amizade mutuamente profíqua nesta longa e difícil caminhada, mas bonita, e que não é fácil lembrar todos os ensinamentos que estes caras me passaram, seria muita presunção da minha parte querer resumir tudo aqui. Enfim, que esta amizade perdure sempre, como devem ser todas as amizades.

Aos amigos e co-orientadores, Prof. Dr. ROBERTO FERREIRA DA SILVA e Prof. Dr. JOÃO CARLOS DE CARVALHO ALMEIDA pelo apoio, orientação, sugestões e credibilidade, mesmo nos momentos de mais estranha loucura.

Ao Prof. Dr. MALAFAIA por ter me aberto a cabeça para toda essa loucura.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Capes, pela concessão de bolsa de estudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CNPq, pela concessão de bolsa de estudo e bolsa de produtividade em pesquisa para meu orientador (processos nº: 143427/2008-3 e 307682/2007-2).

À Fundação Carlos Chagas. Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ, pelo financiamento deste projeto de pesquisa (processos nº: E-26/110.307/2008, E-26/112.202/2008 e E-26/103.026/2008).

Aos membros Prof. Dr. JOÃO CARLOS DE CARVALHO ALMEIDA, Prof. Dr. JOÃO BATISTA RODRIGUES DE ABREU, Prof. Dr. ROBERTO FERREIRA DA SILVA componentes da banca examinadora, pela avaliação do trabalho, orientação e sugestões fornecidas.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pela compreensão, ajuda e pelos ensinamentos transmitidos para minha formação profissional.

A minha namorada JÚLIA GAZZONI JARDIM por me fazer cada vez mais feliz, a cada dia, mesmo sabendo de todas as dificuldades e de toda distância entre RJ e PR, dando-me condições de prosseguir em minha luta diária.

Aos Amigos SAULO ALBERTO DO CARMO ARAÚJO, FÁBIO NUNES LISTA, LEONARDO BARROS DOBBS, VITOR CORRÊA DE OLIVEIRA, ALBERTO CHAMBELA e L. FELIPE LINHARES pelo apoio fundamental, pelas gambiarras, pelos testes e pré-ensaios, e pela condução dos experimentos, sem vocês as coisas teriam sido muito difíceis, talvez eu nem pudesse ter escrito esta tese.

Aos funcionários da UENF, em particular aos do LFIT e do LZNA, especialmente ao JADER, CARLÃO e LOMBARDI.

Aos funcionários e estagiários do Laboratório de Fitotecnia, do Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal da UENF, do Laboratório de Análise de Alimentos da Embrapa Gado de Leite em Juiz de Fora - RJ e Embrapa Agrobiologia em Seropédica – RJ.

Aos amigos da REPÚBLICA DO MOMENTO, REPÚBLICA DOS ESPONJAS E REPÚBLICA GUANABARA pela amizade e pelo tempo de convivência nos mais diversos imóveis no município de Campos.

Aos meus amigos e companheiros de pós-graduação RAFAEL DEMINICIS (o professor), SAULO ALBERTO DO CARMO ARAÚJO (Teco), FÁBIO NUNES LISTA (Fabim), LEONARDO BARROS DOBBS (ô Burrroooo), VITOR CORRÊA DE OLIVEIRA (Vitim chuck), ALBERTO CHAMBELA (BJ Bentinho ou Ô Cambela), MAURICIO FAVORETO (cabelinho), LUCIANE BARBÉ (Lu), TATIANE BARBÉ (Tati), THIAGO VASCONCELOS (Tigrão), PEDRO PIERRO (Ultra-Pescador Parrudo), FÁBIO TEIXEIRA (Forrozeiro, sou guerreioô), ÉRICO LIMA (Capitão), VIVIANE PIMENTEL (Vivi), MARCELO LOBO (Tiça 2, The Bird of Iovi), DOUGLAS MATTOS (Pescador do Busão das Sextas), FÁBIO FIGUEREDO (Fabão), SILVIO FREITAS, SILVÉRIO FREITAS (Júnior) e DANIEL ZANDONADI (Si minino Cabruco Lamparão) pelos anos de convivência, incentivo, amizade e por toda ajuda que recebi durante este programa de pós-graduação.

Aos meus ex-alunos dos cursos Agronomia e Zootecnia que muito me ensinaram durante nosso convívio.

Aos amigos da Associação dos Pós-Graduandos e da pelada da Pós (disciplina obrigatória às 16h das sextas), pelo convívio, brincadeiras e amizade.

Ao FLUMINENSE FOOTBALL CLUB por continuar a me trazer momentos felizes, mesmo que para isso sejam necessários muita angústia e sofrimento. Até porque, serei Fluminense mesmo que a bola não entre, mesmo que o Maracanã se cale, mesmo que o manto sagrado desbote, mesmo que a vitória esteja longe. Serei Fluminense, seja longa a jornada, seja dura a caminhada. Tricolor no peito e na alma, no grito e nas palmas. Serei Fluminense até morrer !!! Porque torcer por um clube é fazer parte de sua alma, conhecer sua sede, entender a sua história, suas raízes, não fazer questão de ser unânime e nem quer ser igual aos outros.

E a todos aqueles que não foram citados, mas que direta ou indiretamente contribuíram na realização desse trabalho.

**MUITO OBRIGADO**

## BIOGRAFIA

**BRUNO BORGES DEMINICIS**, filho de Agostinho Serpa Deminicis e Maria Lúcia Borges Deminicis, nasceu em 23 de junho de 1978, na cidade de Teresópolis, estado do Rio de Janeiro, ou seja, FLUMINENSE.

Formado em Zootecnia pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Seropédica, em maio de 2004.

Mestre em Zootecnia, Área de Concentração Produção Animal, com linha de Pesquisa em Nutrição de Ruminantes, Forragicultura e Pastagens pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Seropédica, em julho de 2005.

Especialista em Gestão Estratégica de Agronegócios, pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Seropédica, em janeiro de 2006.

Em março de 2006 ingressou no Curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - Uenf, em nível de Doutorado, Área de Concentração Produção Vegetal, realizando estudos na área de Fitotecnia, com Linha de Pesquisa em Leguminosas Forrageiras Tropicais para produção de Bovinos à Pasto, Bolsista CAPES/DS, em meados de 2008, passou ser Bolsista CNPq/Programa de Doutorado, por conta do Projeto nº 562153/20080 – Recuperação de pastagens em áreas de pecuária leiteira familiar no norte noroeste fluminense pela dispersão de sementes de leguminosas por bovinos, submeteu-se à banca para defesa de tese de Doutorado em agosto de 2009.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	xi
ABSTRACT .....	xiv
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>1</b>
2.1. Desenvolvimento sustentável e tecnologias limpas em agropecuária .....	1
2.2. O uso de leguminosas tropicais para incrementar a qualidade e a quantidade das pastagens.....	5
2.3. Dispersão de sementes por animais.....	6
2.4. Sobrevivência de sementes após digestão por bovinos.....	7
2.5. Avaliação da qualidade de sementes .....	8
2.6. Dormência de sementes .....	10
2.6.1. Categorias de dormência .....	10
2.6.2. Causas da dormência.....	12
2.7. Características das espécies leguminosas estudadas.....	14
2.7.1. Cunhã ( <i>Clitoria ternatea</i> ) .....	14
2.7.2. Estilosantes ( <i>Stylosanthes</i> sp.).....	15
2.7.3. Soja Perene ( <i>Neonotonia wightii</i> ) .....	16
2.7.4. Macrotiloma ( <i>Macrotyloma axillare</i> ).....	17
<b>3. TRABALHOS.....</b>	<b>19</b>
<b>TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE <i>Clitoria ternatea</i> L.....</b>	<b>20</b>
Resumo .....	20
Abstract.....	21

INTRODUÇÃO.....	22
MATERIAL E MÉTODOS .....	23
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	25
CONCLUSÕES.....	28
AGRADECIMENTOS.....	28
REFERÊNCIAS .....	29
<b>AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS SUBMETIDAS À PERMANÊNCIA EM MISTURA MINERAL PARA BOVINOS.....</b>	<b>36</b>
Resumo .....	36
Abstract.....	37
INTRODUÇÃO.....	38
MATERIAL E METÓDOS .....	39
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	41
CONCLUSÕES.....	45
AGRADECIMENTOS.....	45
REFERÊNCIAS .....	46
<b>SEMENTES DE LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS SUBMETIDAS À MASTIGAÇÃO SIMULADA E À DIGESTÃO ÁCIDO-ENZIMÁTICA <i>in vitro</i>.....</b>	<b>52</b>
Resumo .....	52
Abstract.....	53
INTRODUÇÃO.....	54
MATERIAL E MÉTODOS .....	55
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	58
CONCLUSÕES.....	60
AGRADECIMENTOS.....	60
REFERÊNCIAS .....	61
<b>SEMENTES DE LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS SUBMETIDAS À TÉCNICA DE FERMENTAÇÃO <i>in vitro</i> E <i>in situ</i>.....</b>	<b>67</b>
Resumo .....	67
Abstract.....	68
INTRODUÇÃO.....	69
MATERIAL E MÉTODOS .....	70
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	71

CONCLUSÕES.....	73
AGRADECIMENTOS.....	74
REFERÊNCIAS .....	74
<b>RECUPERAÇÃO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS EM FEZES DE BOVINOS.....</b>	<b>81</b>
Resumo .....	81
Abstract.....	82
INTRODUÇÃO.....	83
MATERIAL E MÉTODOS .....	84
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	86
CONCLUSÕES.....	89
AGRADECIMENTOS.....	89
REFERÊNCIAS .....	90
<b>PRODUÇÃO DE MATÉRIA SECA, COMPOSIÇÃO QUÍMICA E PRODUÇÃO RADICULAR DE LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS SEMEADAS POR FEZES BOVINAS .....</b>	<b>96</b>
Resumo .....	96
Abstract.....	97
INTRODUÇÃO.....	98
MATERIAL E MÉTODOS .....	99
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	101
CONCLUSÕES.....	103
AGRADECIMENTOS.....	104
REFERÊNCIAS .....	104
<b>4. RESUMO E CONCLUSÕES.....</b>	<b>110</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>114</b>

## RESUMO

DEMINICIS, Bruno Borges; Zootecnista, D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Agosto, 2009; **Leguminosas forrageiras tropicais: potencial fisiológico de sementes e para implantação por bovinos em pastagens.** Prof. Orientador: Henrique Duarte Vieira. Prof. Conselheiros: Roberto Ferreira da Silva e João Carlos de Carvalho Almeida.

O objetivo desse trabalho foi desenvolver tecnologia de baixo custo para enriquecimento e/ou recuperação de pastagens com a introdução e dispersão de leguminosas pelas fezes bovinas. Pretendeu-se, portanto, avaliar o potencial fisiológico das sementes antes e após sofrerem possíveis danos causados pelo estresse salino, proporcionado pela permanência de sementes em mistura mineral para bovinos, pela mastigação, pela passagem pelo trato digestório e fermentação nas fezes, utilizando-se para isso testes de germinação, teste de vigor e observação da germinação de plântulas nas placas fecais, bem como a avaliação da produção de matéria seca, composição bromatológica e produção radicular das plantas que se desenvolveram nas placas fecais num período de 120 dias de crescimento. No primeiro experimento, sementes de cunhã foram submetidas aos métodos de pré-condicionamento: a) escarificação manual com lixa e imersão em água por 14 horas a 25°C, e b) imersão em água a temperatura de 95°C com manutenção das sementes na mesma água por 24 horas a 25°C. Após o pré-condicionamento, os tegumentos das sementes foram retirados e as sementes imersas em soluções de tetrazólio. A escarificação manual com lixa e posterior embebição em água por 14 horas, a 25°C apresentou maior eficiência

no pré-condicionamento de sementes de cunhã e a imersão das mesmas em solução de tetrazólio a 0,3%, por 2 horas e 30 minutos, a 25°C, permitindo avaliar a qualidade de sementes dessa espécie. No segundo experimento foi avaliado o potencial fisiológico de sementes de cunhã, estilosantes, macrotiloma e soja perene submetidas à permanência em mistura mineral para bovinos. Os resultados mostraram que o estresse salino, até 24 horas, não representou risco para a germinação das sementes. No terceiro experimento verificou o efeito da mastigação simulada sobre a sobrevivência de sementes de cunhã, estilosantes, macrotiloma e soja perene submetidas a diferentes períodos de digestão ácido-enzimática “*in vitro*”. No quarto experimento avaliou a sobrevivência de sementes de cunhã, estilosantes, soja perene e macrotiloma submetidas ao ensaio de fermentação *in vitro* e ao ensaio *in situ*. Os tempos de fermentação foram: 6, 12, 24, 48, 96 e 144 horas, e o tempo zero foi realizado no laboratório. Foram determinadas as percentagens de germinação de cada espécie em cada tempo de fermentação. Pelos resultados obtidos no terceiro e quarto experimento foi possível observar que as sementes de leguminosas, por possuírem tegumentos duros e impermeáveis, quando submetidas aos tratamentos, apresentam alto potencial de resistência, e, desta forma, maiores são suas chances de passar pelo trato digestório dos bovinos, sendo capazes de germinar quando defecadas nas pastagens. No quinto experimento foi avaliada a recuperação, sobrevivência de sementes submetidas ao trato digestório de bovinos e a germinação destas sementes em placas fecais de bovinos em casa de vegetação. Pôde-se concluir que os bovinos constituem facilitadores na dispersão de cunhã, macrotiloma e soja perene, mas não de estilosantes nas condições deste estudo. E o melhor desempenho quanto ao número médio de plantas germinadas nas placas fecais foi alcançado pela espécie macrotiloma, sendo seguido pelas espécies cunhã e soja perene. No sexto e último experimento foram avaliados a produção de matéria seca, composição bromatológica e produção radicular de plantas de cunhã, macrotiloma e soja perene, que após terem suas sementes passadas pelo trato digestório de bovinos, germinaram e se desenvolveram em placas fecais bovinas. Os resultados mostram que as plantas desenvolvidas nas fezes foram capazes de expressar boa produção de matéria seca e que a passagem de sementes, das espécies estudadas, pelo trato digestório dos bovinos não implica necessariamente na redução ou aumento da produtividade de matéria seca pelas

plantas. O macrotiloma foi a espécie que apresentou a maior produção de matéria seca por hectare. Os teores de PB, FDN e FDA não sofreram alterações dentro dos períodos de dispersão em que as sementes foram cultivadas. A espécie soja perene apresentou o maior teor de PB e o menor de FDA e valor intermediário para FDN, desta forma, foi a espécie que apresentou qualidade nutricional superior dentre as estudadas. O macrotiloma foi a espécie que apresentou a maior produção de matéria seca de raízes dentre as estudadas.

## ABSTRACT

DEMINICIS, Bruno Borges; Zootecnista, D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; august, 2009; **Tropical legume forrages: physiological potential of seeds and for implantation with bovines in the pastures.** Prof. Adviser: Henrique Duarte Vieira. Council member: Roberto Ferreira da Silva and João Carlos de Carvalho Almeida.

The objective of this work was to develop low cost technology for enrichment and/or recovery of pastures with the introduction and legumes dispersion for the bovine dungs. Therefore, the physiologic potential of the seeds was evaluated before and after suffering possible damages caused by the saline stress, proportionate for the seeds permanence in mineral mixture for bovine, for the mastication, for the passage for the digestive treatment and fermentation in the feces, being used for that germination tests, vigor test and observation of the plants germination in the bovine dungs, as well as of the evaluation of the of dry matter production, chemical composition, roots production of the plants that grew in the fecal plates in a period of 120 days of growth. In first experiment, seeds collected in Seropédica county (RJ) e Fortaleza county (CE) were submitted to the following methods of pre-conditioning: a) scarification with sandpaper and immersion in water of 25°C for 14 hours; and b) immersion in water of 95°C and left in the same water to rest without heating for 24 hours at 25°C. The tegument seeds were removed and the seeds were immerged in tetrazolium solutions. Scarification with sadpaper and immersion in water of 25°C for 14 hours were the most efficient in pre-conditioning Butterfly pea seeds and 0,3% tetrazolium solution

for 2 hours and 30 minutes at 25°C allowed evaluating seeds of this species. In second experiment studied physiologic potential of seeds of butterfly pea, stylo, archer, and perennial soybean submitted to the permanence in mineral mixture for bovine. The saline stress, up to 24 hours, didn't represent risk for the germination of the seeds. In third experiment evaluated the effects of four tropical forages legumes seeds submitted to the simulated mastication in laboratory, with a metallic bar and the survival to different periods of acid-enzymatic digestion "in vitro ". In fourth experiment evaluated the survival of four tropical legumes seeds submitted to different periods of ruminal incubation simulated by *in vitro* and *in situ* fermentation. The times of incubation were: 6, 12, 24, 48, 96 and 144 hours and the time zero was estimate in the laboratory. The results of third and fourth enable us to observe the legume seeds, by having hard and impermeable teguments, when submitted to ruminal incubation showed high resistance potential, and, this way, larger chances of passage through the gastrointestinal tract of bovine, when defecated in the pastures are able to germinate. In fifth experiment was developed with the purpose of evaluating the recovery and survival of tropical legume seeds submitted to the digestive treatment of bovine rehearsal and evaluating the seeds germination of this seeds in bovine dungs in greenhouse. Starting from the obtained results it can be ended that: The bovine constitute the dispersion facilitators for butterfly pea, archer and perennial soy bean, but not of stylosanthes. The best acting with relationship to the medium number of plants germinated in the fecal lates it was reached by archer, being followed by the butterfly pea and perennial soy bean. In sixth experiment evaluated dry matter content and dry matter production, chemical composition and roots production of butterfly pea, archer, and perennial soybean plants after your seeds pass for the bovine digestive system, germinated and they grew in bovine dungs. The plants developed, in dungs, were capable to express good dry matter production. The passage of seeds of the studied species for the bovine digestive system doesn't necessarily implicate in the reduction or increase of the dry matter productivity for the plants. The archer species presented the largest production of dry matter for hectare. A significant effect was not observed for the values CP, NDF and ADF of the legumes in each dispersion periods. The perennial soybean presented the largest values of CP and the smallest of ADF and intermediate value for NDF, in this way, that presented superior quality nutritional among studied them. The

archer was presented the largest production of roots dry matter among studied them.

## 1. INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira caracteriza-se pela exploração de pastagens, sendo estas geralmente formadas por gramíneas, em geral com baixos índices zootécnicos e de produtividade. Uma das principais causas da degradação das pastagens é a redução na produção vegetal da gramínea em monocultura, que ao longo do tempo, é regulada pela disponibilidade do nitrogênio para as plantas.

Atualmente, um dos maiores desafios da agropecuária mundial é propiciar aumentos substanciais na produtividade, levando a maior retorno dos investimentos e, conseqüentemente, à manutenção do homem no campo, mantendo, entretanto, a sustentabilidade dos agrossistemas. Desta forma, a preocupação com o problema social e com a preservação ambiental tem resultado na busca de tecnologias para implantação de novos sistemas de produção viáveis, tanto em termos agronômicos, como em termos sociais, econômicos e ecológicos, simultaneamente, a curto e a longo prazo, alcançando sustentabilidade e crescimento da produção como metas compatíveis.

Neste sentido, para que sejam alcançados índices satisfatórios de produtividade a pasto, faz-se necessário lançar mão de tecnologias que possibilitem aos animais expressarem o seu potencial produtivo, oferecendo assim, maior sustentabilidade e lucratividade para a atividade. A adoção de sistemas de consórcio entre gramíneas e leguminosas forrageiras é uma alternativa interessante para incrementar a produtividade animal.

A introdução de leguminosas em pastagens de gramíneas tem sido sugerida como alternativa para suprir ou minimizar a deficiência de nitrogênio nesses ecossistemas, aumentando a capacidade de suporte, prolongando a produtividade e prevenindo a degradação das pastagens. Isto porque promove incrementos na produção animal, pelo aumento da qualidade e quantidade de

ferragem em oferta, pela diversificação do sistema, pela redução dos riscos da ocorrência de pragas e doenças. Além dessas vantagens, as leguminosas promovem melhor proteção ao solo, reduzindo o risco de erosão e lixiviação dos nutrientes.

Uma parte do nitrogênio (N) fixado em pastagens consorciadas torna-se disponível para as gramíneas, principalmente por meio da decomposição de resíduos das leguminosas e dos excrementos dos animais em pastejo, gerando um aporte de nutrientes no solo. Os benefícios da leguminosa são tanto por manter um balanço positivo de nitrogênio no sistema, por meio da fixação biológica, como pelo aumento da qualidade da palha, o que favorece os processos de mineralização. Diretamente, melhora a qualidade da dieta animal, o que se verifica com leguminosas de alta aceitabilidade, e, indiretamente, a contribuição se dá por transferência de nitrogênio para a gramínea associada, refletindo em melhoria de atributos forrageiros, como teor de proteína e maior capacidade produtiva, o que se traduz por maior capacidade de suporte.

Desta forma, a dispersão de sementes de leguminosas por meio das fezes bovinas é uma metodologia de importante relevância para a introdução de leguminosas em pastagens, tendo em vista todo aspecto ambiental e o baixo custo operacional em relação aos sistemas tradicionais.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Desenvolvimento sustentável e tecnologias limpas em agropecuária**

A sociedade atual percebe, cada vez mais, que é responsável pelo legado ambiental que deixa às gerações futuras, por isso, promover tecnologias ambientais exige certa pedagogia e um esforço de informação, que para ser eficaz precisa ser realista, de fácil compreensão e acessível (CESE, 2004). Desta forma, uma política de informação para a sustentabilidade é fundamental, pois orienta a utilização de tecnologias seguras e adequadas que promovam a produção, mantenham ou melhorem a fertilidade dos solos, assegurem a reciclagem dos nutrientes, conservem a água e a energia e controlem os inimigos das culturas (Augusto e Branco, 2003). Em essência é um processo de transformação orientado no desenvolvimento tecnológico e na mudança institucional, derivados dos esforços sistemáticos para consolidação de uma sociedade mais estável, racional e harmoniosa, pautada em princípios de equidade e justiça nas relações entre as pessoas, tanto dentro de cada núcleo social, como em nível global para atender às necessidades e às aspirações humanas no presente e futuro (Bello, 1998; Barros, 2000). É neste conceito de necessidade de acentuar a sustentabilidade na agricultura que se enquadram as tecnologias limpas.

As tecnologias limpas são um conjunto de técnicas que minimizam e reduzem o impacto ambiental negativo. A produção com o uso de tecnologias limpas tem um caráter preventivo, procurando evitar a produção de resíduos pelo aproveitamento máximo das matérias-primas utilizadas durante o processo produtivo (Cunha et al., 2005). A produção integrada é considerada um sistema de produção de alimentos de alta qualidade no qual é essencial a preservação e melhoria da fertilidade do solo e da biodiversidade e a observação de critérios éticos

e sociais. A produção integrada é atualmente uma promissora opção por integrar sistemas agrocomerciais socialmente sustentáveis (Avillez et al, 2004).

A integração e a interação dos componentes pecuário, agrícola e florestal são de vital importância para o desenvolvimento sustentável. Todos de maneira a contemplar as questões pertinentes à mitigação de seus impactos no ambiente e permitindo a máxima biodiversidade possível, o uso conservacionista do solo, a produção e conservação da água. (Macdicken e Vergara, 1990). Essa integração tem como objetivo principal a otimização da produção biológica por unidade de área e a manutenção desta capacidade produtiva (Baggio, 1983). Na pecuária os sistemas silvipastoris, como são chamados, têm potencial de substituir com vantagens os atuais ecossistemas de pastagens cultivadas de gramíneas forrageiras (monoculturas) (Franke et al., 2001). Um dos requisitos para o sucesso de sistemas silvipastoris sustentáveis é a escolha acertada das espécies componentes do sistema. No caso das espécies forrageiras, não basta que estas sejam tolerantes ao sombreamento, é necessário selecionar espécies com boa capacidade produtiva, adaptadas ao manejo e ambientadas às condições edafoclimáticas da região onde serão implantadas (Garcia e Andrade, 2001). Neste aspecto o uso de “Pastagens Ecológicas” vem ganhando cada vez mais terreno (Melado, 2000), já que se aproveita toda uma estrutura já estabelecida sem onerar o sistema, além de agregar valor ao mesmo.

A “Pastagem Ecológica” é uma adaptação do Sistema de Pastoreio Racional (Voisin, 1979; Romero, 1998; Sório, 2003; Pinheiro Machado, 2004), proposta por Melado (1999), como o resultado da aplicação do pastoreio racional associado a outros critérios que possibilitam um melhor equilíbrio ecológico da pastagem, favorecendo a sua sustentabilidade. A formação de uma pastagem ecológica utiliza, também, a dispersão de sementes por bovinos, no qual as mesmas são colocadas junto com o sal para o gado comer, com o objetivo de, quando expelidas nas fezes, originar moitas de plantas nas fezes permitindo a formação de pastagem diversificada e de qualidade (Daniel e Passos, 2002).

## 2.2. O uso de leguminosas tropicais para incrementar a qualidade e a quantidade das pastagens

A utilização de pastagens é um dos fatores de maior importância para a redução de custos na pecuária, que pode ser obtida por meio do melhoramento das mesmas, seja pela recuperação, seja pela formação com a introdução de forrageiras potencialmente mais produtivas e associadas a leguminosas (Souza, 2002).

Portanto, a consorciação de gramíneas e leguminosas forrageiras constitui uma boa opção, de baixo custo, para atenuar o problema da degradação das pastagens. A contribuição pode ser feita pela transferência do N fixado para a gramínea, o que aumenta a capacidade de suporte da pastagem e prolonga sua capacidade produtiva (Cantarutti et al., 2002).

No entanto, o enriquecimento das pastagens com o uso de leguminosas exige o conhecimento das espécies e cultivares que serão utilizados como forrageiras numa determinada região (Souto e Lucas, 1972).

A maior parte de espécies de forrageiras de leguminosas inclui gêneros como *Stylosanthes*, *Arachis*, *Centrosema*, *Macroptilium*, *Desmodium*, *Leucaena*, *Zornia*, *Calopogonium*, muitas delas originariamente do continente americano, mas de uso difundido nos trópicos (Pereira et al., 2001; Borges do Valle, 2002). A avaliação de leguminosas forrageiras com a finalidade de aproveitá-las em pastagens já foi realizada por diversos pesquisadores, porém, um dos maiores problemas encontrados é a fase de estabelecimento (Kyneur, 1962). De acordo com Benedetti apud Tonin (2004) a forma mais barata de introduzir leguminosas em pastagens é utilizar as vacas como “plantadeiras”, ou seja, o produtor introduz sementes na dieta das vacas e os próprios animais fazem o semeio. Algumas forrageiras por produzirem volumosos de boa qualidade e por apresentarem sementes pequenas são indicadas com esta finalidade: soja perene (*Neonotonia wightii*), cunhã (*Clitoria ternatea*), siratro (*Macroptilium atropurpureum*), centrosema (*Centrosema* sp.), Macrotiloma (*Macrotyloma axillare*), kudzu tropical (*Pueraria phaseoloides*), estilosantes (*Stylosanthes* sp.) e galactia (*Galactia striata*) (Cóser e Cruz Filho, 1989; Walle et al., 2001; Deminiciis et al., 2005; Silva, T.O., 2008).

### 2.3. Dispersão de sementes por animais

Há na literatura especializada, grande número de trabalhos mostrando o papel de animais como agentes dispersores de sementes (Galetti e Pizo, 1996; Johansson et al., 1996; Johansson e Nilsson, 1993; Guevara e Laborde, 1993; Pizo, 1997; Francisco e Galetti, 2001; Pizo e Simão, 2001; Gazzeta et al., 2002; Galetti e Francisco, 2002; Castro e Galetti, 2004; Krügel et al. 2006) e que um grande número de sementes é ingerido por esses mesmos, sendo que parte delas é destruída e outra parte sobrevive e germina (Gardener, 1993; Bonn, 2004; Deminiciis, 2005). A dispersão de sementes é um processo ecológico fundamental para a manutenção de algumas espécies vegetais. Estima-se então que até 90% das espécies de árvores encontradas nas florestas tropicais possuem suas sementes dispersas por animais (Howe e Smallwood, 1982). Nesta interação, as plantas precisam de agentes dispersores eficientes que garantam a sobrevivência de suas sementes e o desenvolvimento da nova planta, em troca, os animais utilizam os nutrientes dos tecidos vegetais na alimentação. Todavia, diversos estudos têm mostrado que as diferentes espécies de animais não apresentam a mesma eficiência como dispersoras (Galetti e Francisco, 2002). Vários fatores podem influenciar na eficiência deste processo, tais como, o número de sementes disperso por defecção, a qualidade do tratamento dado à semente via tubo gastrointestinal, qualidade do tegumento das sementes, bem como a qualidade da deposição destas sementes (Schumpp, 1993).

Grande parte dos estudos sobre dispersão de sementes por animais envolve a utilização de aves e morcegos frugívoros, devido a sua abundância e a frequência com que se alimentam de sementes ou frutos (Medellín e Gaona, 1999; Francisco e Galetti, 2001). Particularmente com relação aos ruminantes, existem trabalhos que observaram a germinação de sementes nas fezes de bovinos e ovinos (Piggin, 1978; Janzen, 1993; Santos, 1999; Rodrigues, 2002) e outros que trataram de estudar a dispersão de sementes, propriamente dita, (Gardener et al., 1993ab; Bray et al., 1998; Michael et al., 2006). Contudo, no Brasil, os trabalhos não tratam o assunto como dispersão, abordam apenas a germinação de sementes recuperadas em fezes bovinas e ovinas (Machado et al., 1997; Rosito et al., 2000). Outros trabalhos tratam a dispersão de sementes por bovinos como um problema, pois

admitem apenas a dispersão acidental de plantas daninhas ou eventual intoxicação de bovinos por sementes (Tokarnia, et al. 2000; Afonso e Pott, 2001).

#### **2.4. Sobrevivência de sementes após digestão por bovinos**

A sobrevivência das sementes após passagem pelo trato digestório dos ruminantes é o fator de grande implicação para a dinâmica populacional de espécies forrageiras numa pastagem (Gardener et al.,1993). Um grande número de sementes sobrevive a essa passagem e, posteriormente, é dispersa em diferentes áreas. Desta forma, os bovinos podem ser utilizados para introduzir uma ou mais espécies desejáveis em pastagens, disseminando sementes por um método natural, mas também podem ser responsáveis pela disseminação de espécies não desejáveis em novas áreas.

Todavia, a passagem das sementes através do trato digestório de bovinos e a decomposição das fezes são importantes fases onde as sementes estão sujeitas a muitos danos. No trato digestório ocorre o processo anaeróbio por bactérias proteolíticas e celulolíticas e o processo enzimático ligado ao abomaso e intestino grosso, no qual as sementes são banhadas em ácido (pH 2-5) e enzimas proteolíticas, amilolíticas e lipolíticas (Teixeira, 1997). Na placa fecal a germinação das sementes é afetada pelo processo de decomposição da matéria orgânica efetuada pela ação de fatores abióticos, isto é, temperatura, umidade, precipitação e luz (Smith, 1986, Monteiro-Filho e Penereiro, 1987; Carvalho et al., 2000), pela ação de certos organismos, como fungos e bactérias, e de um certo número de insetos (Blume, 1984; Catts e Goff, 1992). Na estação chuvosa, as sementes germinam sob alta umidade. Na estação seca, ou ambientes secos, a germinação na placa fecal é fortemente afetada, justamente pelo prolongado período de desidratação da placa (Gardener et al.,1993ab). Apesar dessas informações certamente serem úteis, elas não são conclusivas, pois a sobrevivência de sementes de várias espécies, após passagem pelo trato digestório, é pouco conhecida (Skerman, 1977; Blackshaw e Rode, 1991). Até agora, apenas algumas sementes de espécie tropicais foram submetidas ao trato digestório de bovinos e entre 2 a 53% permaneceram viáveis (Burton e Andrews, 1948; Yamada e Kawaguchi, 1972; Wilson e Hennessy 1977; Simão Neto, Jones e Ratcliff, 1987; Deminichis et al., 2009).

Entretanto é provável que as sementes que sobrevivem em grande proporção são beneficiadas pela quantidade de nutrientes disponíveis nas fezes e pelo período de rejeição ao pastejo dos animais (Bruun e Poschlod, 2006). A presença das fezes em pontos do pasto normalmente causa rejeição ao consumo animal ficando essa porção não consumida até que o efeito da rejeição diminua com o tempo ou novas áreas mais recentes recebam excretas passando a substituí-los. Essas áreas podem permanecer continuamente de 2 a 3 períodos de pastejo sem serem consumidas (Hirata et al, 1997) e podem variar de 6 à 12 vezes a área coberta pelo bolo fecal (Norman e Green, 1958; Maclusky, 1960; Greenhalgh e Reid, 1968). A degradação ou desaparecimento das fezes no pasto pode estar compreendido em um período de tempo que varia de 30 dias até 17 meses, em função das condições climáticas (Weeda, 1969). Essa porção rejeitada pode ocupar de 10 a 47% da área da pastagem (Ferreira, 2004).

## **2.5. Avaliação da qualidade de sementes**

O conhecimento da qualidade de um lote de sementes depende da disponibilidade de metodologias precisas, que levem à obtenção de resultados confiáveis (McDonald, 1998). O método rotineiro para determinar a qualidade das sementes é o teste de germinação, que, embora, muito útil, não informa sobre o vigor, longevidade e emergência em campo. Além disso, necessita um prazo de 7 a 28 dias para informar os resultados, período considerado longo, para atender aos interesses comerciais dos produtores rurais. A utilização de testes rápidos para avaliar a qualidade das sementes é importante, principalmente, para agilizar as decisões quanto ao manejo de lotes de sementes durante as etapas de pré e de pós-colheita (Pinto et al., 2008). Por isso, o desenvolvimento de testes para a avaliação da qualidade fisiológica em sementes, bem como a padronização destes, é essencial para a constituição de um eficiente controle de qualidade (Muniz et al., 2004).

O teste de tetrazólio tem se apresentado como uma alternativa de sucesso nos programas de controle de qualidade de sementes, pela qualidade e rapidez na determinação da viabilidade e do vigor das sementes, permitindo obter resultados, de modo geral, em menos de 24 horas (Hampton e Coolbear, 1990; Barros, 2002). Este se trata de um teste que, pela observação da coloração obtida

nas diferentes partes da semente, permite determinar a presença, a localização e a natureza das alterações nos tecidos das sementes (França Neto et al., 1999), além de, muitas vezes, possibilitar a identificação das causas da perda da viabilidade e do vigor. O teste de tetrazólio baseia-se na atividade das enzimas desidrogenases nos processos respiratórios dos tecidos (Nery et al., 2007). Durante a respiração, ocorre a liberação de íons hidrogênio, com os quais o sal 2,3,5 trifenilcloreto de tetrazólio reage formando uma substância de cor vermelha e insolúvel, denominada de formazam, nos tecidos vivos da semente. A velocidade com que o sal de tetrazólio é absorvido pelos tecidos das sementes depende do número de barreiras físicas que este encontra (Pinã-Rodrigues e Santos, 1988). Em muitas espécies, o pré-condicionamento das sementes se faz necessário visando a penetração da solução e a ativação do sistema respiratório (Vieira e Von Pinho, 1999). No entanto, a utilização desse teste restringe-se, principalmente, às sementes de algumas espécies, tais como as de soja (França Neto et al., 1988, 1998, 1999), de milho (Dias e Barros, 1995), feijão (Bhéring et al., 1996; Santos et al., 2007) e de algumas gramíneas forrageiras (Carvalho e Toledo, 1976; Dias e Alves, 2001; Novembre et al., 2006).

Contudo, um teste alternativo tem sido recomendado para determinação da qualidade de sementes de leguminosas, principalmente o de condutividade elétrica, devido sua objetividade e rapidez, facilidade de execução na maioria dos laboratórios, sem maiores despesas em equipamento e treinamento de pessoal (Vieira e Krzyzanowski, 1999), além de permitir a identificação de injúrias durante a embebição e o grau de envelhecimento (Powell, 1998). O teste de condutividade elétrica tem sido usado para avaliar o vigor das sementes de leguminosas como: ervilha, na Inglaterra, Austrália e Nova Zelândia (Hampton et al., 1992), soja nos EUA, Canadá e Brasil (AOSA, 1983; Dias e Marcos-Filho, 1996), ingá e amendoim no Brasil (Barbedo e Cicero, 1998; Vanzolini e Nakagawa, 2005). No teste de condutividade elétrica a qualidade das sementes é avaliada indiretamente por meio da determinação da quantidade de lixiviados na solução de embebição das sementes (Vieira et al., 2002). Segundo Vieira et al. (2004), a determinação da condutividade elétrica da água de imersão das sementes é bastante sensível para avaliar o vigor das sementes, uma vez que no processo de deterioração um dos eventos iniciais é a perda da integridade das membranas. As sementes com baixo vigor tendem a apresentar desorganização

na estrutura das membranas celulares, permitindo um aumento na lixiviação de solutos, tais como: açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos, proteínas e substâncias fenólicas, e de íons inorgânicos:  $K^+$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ,  $Na^{++}$  (Bewley e Black, 1994; Vanzolini e Nakagawa, 2005; Dias et al., 2006).

## **2.6. Dormência de sementes**

O desenvolvimento da semente é o resultado normal do processo de polinização, logo após a fertilização o embrião inicia seu crescimento, porém, às vezes, não consegue completar seu desenvolvimento. Isto pode estar relacionado com as condições fisiológicas que envolvem o endosperma. A germinação, que ocorre quando as sementes estão maduras e se as condições ambientais forem adequadas, é o processo de reativação do crescimento do embrião, culminando com o rompimento do tegumento da semente e o aparecimento de uma nova planta. As condições básicas requeridas para a germinação das sementes são a água, o oxigênio, a temperatura e, para algumas espécies, a luz (Fowler e Bianchetti, 2000).

Entretanto, diante da presença de inibidores químicos ou havendo indução de alterações metabólicas que bloqueiam a transcrição da mensagem genética, é estabelecido o estado de dormência, ou seja, um tipo de latência em que a ausência de germinação é causada por empecilhos localizados na própria semente (Marcos-Fillho, 2005).

Pelo conceito atual o fenômeno da dormência é tido como um recurso pelo qual a natureza distribui a germinação das sementes no tempo, aumentando a probabilidade de sobrevivência da espécie, justamente por conta da dispersão de sementes em diferentes estágios de dormência e pela dependência de fatores ambientais para a superação da dormência (Carvalho e Nakagawa, 2000).

### **2.6.1. Categorias de dormência**

#### *Dormência tegumentar, exógena ou primária*

As sementes viáveis de algumas espécies não germinam mesmo sob condições favoráveis. Porém, em muitos casos, o embrião destas, quando

isolado, germina normalmente. Neste caso, a semente é dormente porque os tecidos que a envolvem exercem um impedimento que não pode ser superado, sendo conhecido como dormência imposta pelo tegumento.

Esta é a mais comum das categorias de dormência e é verificada sistematicamente em determinadas espécies, com profundidade variável, independente do ano e local de produção ou região de ocorrência; trata-se, portanto de uma característica ou padrão de desenvolvimento específico e programado geneticamente (Marcos-Filho, 2005). Além disso, está relacionada com a impermeabilidade do tegumento ou do pericarpo à água e ao oxigênio, com a presença de inibidores químicos no tegumento ou no pericarpo, tais como a cumarina ou o ácido parasórbico, ou com a resistência mecânica do tegumento ou do pericarpo ao crescimento do embrião (Fowler e Bianchetti, 2000).

#### *Dormência embrionária ou secundária*

Quando a remoção do tegumento de uma semente viável não permite que esta germine, caracteriza-se a dormência embrionária, que é devida a causas que envolvem o embrião. Esta categoria de dormência ocorre esporadicamente, também em resposta a determinada condição do ambiente. Neste caso, a semente é programada para desencadear a manifestação do mecanismo que determina a dormência, mas geralmente não está dormente quando se desliga fisiologicamente da planta-mãe, podendo ser devido a ocorrência de embrião imaturo, ou presença de mecanismo de inibição fisiológica que o impedem de desenvolver-se (Fowler e Bianchetti, 2000; Marcos-Filho, 2005). Portanto, a semente pode adquirir a dormência secundária sem ter sido dormente ou após ter superado a dormência primária; também se instala durante a maturação, mas o aparato que conduz à sua manifestação permanece em recesso e somente é ativado em situações especiais. No entanto, não se sabe até que ponto há ou não diferenças fisiológicas entre a dormência primária e a secundária. A indução e a superação da dormência secundária podem ocorrer sucessivamente na mesma semente, dependendo das variações no ambiente, até que as condições se tornem amplamente favoráveis para a germinação. Esse fenômeno é conhecido como “ciclos de dormência”, em que a dormência secundária pode se manifestar

sob a ocorrência de condições subótimas do ambiente, após o declínio da dormência primária (Hilhorst, 1998).

As duas categorias de dormência podem ocorrer simultaneamente ou sucessivamente nas sementes de uma mesma espécie. As sementes são ditas com dormência quando são dispersas da planta matriz em estado dormente, ou seja, a dormência é iniciada durante o desenvolvimento da semente. Contudo, a dormência pode ser induzida quando as sementes já se encontram maduras, e isto ocorre quando são colocadas para germinar sob condições desfavoráveis de aeração, temperatura ou luminosidade. As sementes de várias espécies desenvolvem mecanismos complexos, nos quais partes do eixo embrionário diferem na intensidade da dormência. Nestes casos, chamados de dormência epicotelia, a radícula se desenvolve e o epicótilo não. Em algumas outras espécies, a radícula apresenta alguma dormência, porém em menor intensidade que a do epicótilo, o que representa o caso de dormência dupla.

### **2.6.2. Causas da dormência**

A dormência tem sido atribuída, em diversos relatos sobre o assunto, à impermeabilidade do tegumento à água, impermeabilidade do tegumento a gases, resistência mecânica do tegumento, embrião rudimentar, imaturidade fisiológica, presença de substâncias inibidoras e combinação entre duas ou mais dessas características. Estas têm sido consideradas as “causas clássicas” da dormência das sementes (Marcos-Filho, 2005).

*Impermeabilidade do tegumento:* Souza e Marcos-Filho (2001) efetuaram uma revisão sobre as relações entre o tegumento de sementes e o ambiente, em leguminosas, discutindo seus mais variados aspectos, incluindo a dormência. As sementes com tegumento impermeável à água são conhecidas por sementes duras; dentre as mais conhecidas, as sementes das famílias das *Leguminosae*, *Cannaceae*, *Convolvulaceae*, *Malvaceae* e *Chenopodiaceae* apresentam na testa camadas de um tecido chamado de osteosclereides, que impede a entrada de água e atrasa a germinação por vários anos.

*Interferência nas trocas gasosas:* o reconhecimento da existência de um impedimento físico à entrada de gases na semente não é predominante na literatura (Marcos-Filho, 2005). Conforme Bewley e Black (1994), aparentemente a “cobertura” não impõe esse tipo de dormência através da restrição estrutural ao oxigênio, de modo que inibidores químicos devem estar presentes. Segundo Fowler e Bianchetti (2000), os impermeáveis que circundam o embrião limitam a capacidade de trocas gasosas, impedindo a entrada do oxigênio, limitante a germinação, mantendo a semente dormente. Isto porque a remoção do tegumento e a consequente superação da dormência estariam mais relacionados à permissão da saída de inibidores do que à eliminação de barreiras físicas e à maior facilidade de acesso ao oxigênio. Portanto, o efeito do tegumento intacto seria associado à retenção de inibidores e, em consequência disso, a constituição de uma barreira à entrada do oxigênio.

*Resistência mecânica ou Impedimento mecânico:* Neste caso, há absorção de água e oxigênio, mas presume-se que a expansão do embrião é limitada pela resistência exercida pelo tegumento (Bewley, 1997). Entretanto, em alguns casos, o embrião produz a enzima mananase, que enfraquece o tecido resistente, superando a dormência (Fowler e Bianchetti, 2000). Há dúvidas entre vários pesquisadores quanto à real existência de impedimento puramente mecânico ao crescimento do embrião, supondo-se que alguma restrição ao metabolismo possa inibir a plena retomada de desenvolvimento embrionário que, assim, não exerceria pressão suficiente para romper a “cobertura” (Marcos-Filho, 2005); e também há opiniões segundo as quais a germinação de outras espécies também seria localizada no endosperma (Cantlife et al., 1999).

*Presença de inibidores:* foram encontrados, nas sementes de muitas espécies, inibidores químicos de diferentes classes, localizados no tegumento e no embrião, que são retidos pela semente embebida, ao invés de se dispersarem no meio, bloqueando a germinação. Em alguns casos, contudo, o tegumento parece ter efeito inibidor químico mais intenso do que mecânico, necessitando-se da lavagem das sementes para sua remoção e superação da dormência (Fowler e Bianchetti, 2000). De acordo com Nascimento (2000), vários autores têm destacado a importância do etileno como estimulante à germinação e na

superação da dormência. A produção deste fitormônio tem início imediatamente após a hidratação e aumenta com o decorrer do processo de germinação, mas o perfil dessa formação é variável entre as espécies (Matilla, 2000).

## **2.7. Características das espécies leguminosas estudadas**

### **2.7.1. Cunhã (*Clitoria ternatea*)**

É uma espécie originária do continente africano, foi introduzida e naturalizada na América tropical, atualmente disseminada por todas as partes do mundo (Fantz, 2001). É volúvel, esbelta, perene, rústica e produz uma cobertura bastante densa, muito adaptada aos trópicos e regiões de clima quente com altas precipitações, crescendo em vários tipos de solo, sendo muito tolerante à seca, mas não tolera solos muito úmidos (Duno et al., 2008).

Essa espécie é utilizada como forragem, como planta medicinal e por causa da beleza de suas flores, em muitos países, é utilizada como planta ornamental. Sua propagação é feita por meio de sementes. A quantidade de sementes para formação de pastagens consorciadas é de 5 a 7 kg/ha (Alcântara e Bufarah, 1988). A cunhã se desenvolve muito bem, em uma faixa de precipitações, que vai dos 400 mm até 4.000 mm; suporta altas taxas de lotação e pisoteio (Azevedo, 1983; Azevedo, 1996), no entanto, não tolera encharcamento do solo por muito tempo. A *C. ternatea* possui excelente valor nutritivo, com alta digestibilidade da proteína (até 80%), teores médios de 20% de proteína bruta nas folhas e 10% para planta inteira, com baixo valor de fibra em detergente ácido (20%) e produção média de 8 toneladas de MS/ha/ano (Jones et al., 2000). Araújo Filho et al. (1996) observaram produção média de 19,2 toneladas de MS/ha/ano da cunhã solteira e teores médios de 22% de proteína bruta, no Ceará. Keoghan (1980), no Caribe, observou teores de proteína bruta de 14,8 a 23%. Resultados da consorciação com *Panicum*, capim gordura e *Setaria* apresentam ótimos resultados (Alcântara e Bufarah, 1988), mas sua produtividade não é muito alta, podendo chegar a 7 toneladas de matéria seca/ha/ano. Araújo Filho et al. (1996) observaram que no consórcio capim-elefante e cunhã, a leguminosa não prejudica a produção de fitomassa da gramínea, mas afeta a produtividade de MS do sistema. Em 1988, foi lançado no México o cultivar Techuana; em 1990, em

Honduras, foi lançado o cv. Conchita Clara ou Clitoria, com altos rendimentos de matéria seca e tolerância à seca (CIAT, 2008). Em 1991, foi lançado o cv. Milgarra na Austrália. No Brasil e em Cuba, foram realizados experimentos com dois cultivares, N 63118 e SC-134, respectivamente, apontados como promissores, no entanto, não foram lançados cultivares com nomes comerciais (Aragão, 1984; CIAT, 2008; Cook et al., 2008).

### 2.7.2. Estilosantes (*Stylosanthes* sp.)

Esse gênero possui cerca de 30 espécies, anuais ou perenes, que têm sido utilizadas com sucesso sob pastejo, superando qualquer outra leguminosa tropical nesse aspecto (Kretschmer e Pitman, 2001). O *S. humilis* (anual), *S. hamata* (anual ou perene de vida curta), *S. scabra* (perene), *S. guianensis* (perene) têm sido estudados quanto ao potencial forrageiro.

No Brasil, é um dos poucos gêneros de leguminosas tropicais nos quais foram lançados tantos cultivares, como: cv. Mineirão (*S. guianensis* var. *vulgaris*), cv. Bandeirante (*S. guianensis* var. *pauciflora*), cv. Pioneiro (*S. macrocephala*) e cv. Campo Grande (*S. capitata* e *S. macrocephala*).

O cv. Campo Grande apresenta grande potencial forrageiro por ser boa fonte proteica, por causa da boa fixação biológica de nitrogênio e adapta-se bem aos solos de baixa fertilidade do cerrado brasileiro. Além disso, tem boa resistência à antracnose, doença causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, que limita a persistência de *Stylosantes* spp, na pastagem, em função da desfolha e morte de plantas. Para Barcelos e Vilela (1994), o aprofundamento no estudo de novos acessos, manejo e dinâmica da população de *Sytlosanthes* em pastagens consorciadas parece ser o caminho mais correto para a efetivação das pastagens consorciadas na região dos cerrados. Em 2000, a Embrapa Gado de Corte lançou a leguminosa forrageira estilosantes Campo Grande, composta de mistura física de sementes de linhas melhoradas de *S. capitata* e *S. macrocephala*, para fins de consorciação com gramíneas, principalmente braquiárias (Embrapa Gado de Corte, 2000).

Em geral, o gênero estilosantes é bastante tolerante a solos arenosos, muito resistente à seca, por isso é muito utilizado em pastagens consorciadas e para recuperar áreas degradadas, além de ser muito tolerante à antracnose e

permanecer verde, durante o período seco. Os teores de proteína bruta na parte aérea variam de 12 a 18% (Zimmer et al., 2005; Godoy, 2007). O interesse dos pecuaristas pelo estíloso Campo Grande tem aumentado substancialmente, em consequência dos vários aspectos positivos proporcionados pela leguminosa (Verzignassi e Fernandes, 2002), tais como: bom potencial produtivo, podendo atingir 12 a 13 toneladas de MS/ha/ano; boa produtividade de sementes (200 a 400 kg/ha); possibilidade de colheita mecânica de sementes, reduzindo os custos de produção; boa resistência à antracnose; boa persistência sob pastejo, permanecendo por mais de cinco anos em consorciação com *Brachiaria decumbens*, desde que bem manejada; alta capacidade de ressemeadura natural, contribuindo, sobremaneira, para a sua persistência e boa obtenção de nitrogênio por fixação biológica, por associação de suas raízes com bactérias do gênero *Rhizobium*. Conforme Miranda et al. (1999), a fixação biológica desse cultivar situa-se em torno de 180 kg de N/ha/ano.

### **2.7.3. Soja Perene (*Neonotonia wightii*)**

É uma leguminosa perene, herbácea, rasteira, trepadora volúvel, de origem africana, com hastes pilosas e coloração verde-escura, com raízes profundas, apresentando fixação de nitrogênio em torno de 180 a 200 kg/ha/ano, sendo indicada para fenação, pastejo e adubação verde (Peixoto et al., 1969). Desenvolve-se muito bem em regiões de altitude e em uma faixa de precipitações entre 700 mm e 1.500 mm, e sob temperaturas não muito elevadas (em média 23°C), mas é razoavelmente tolerante a secas prolongadas, devido a profundidade de suas raízes, desta forma, recupera-se bem após a geada e o fogo.

Esta espécie se desenvolve melhor em solos profundos, de boa drenagem, requer pH em torno de 6,5, mas pode crescer em solos com pH 6,0, se não houver problemas de disponibilidade de cálcio. Não tolera solos de drenagem deficiente, sendo muito exigente quanto à sua fertilidade, respondendo bem à adubação, principalmente de fósforo e molibidênio, não tolera solos com altas concentrações de alumínio (Rey et al., 1984; Deminiciis, 2005).

É razoavelmente tolerante à salinidade, quando comparada com outras leguminosas tropicais, sua tolerância pode variar em função do cultivar. Apresenta

lento crescimento inicial e sua produção de matéria seca está em torno de 5-6 t/ha/ano. Sua composição química possui em média, 20% de proteína bruta. O florescimento ocorre entre abril até setembro, dependendo da variedade ser precoce ou tardia. É propagada por sementes, provenientes de autofecundação, usando-se para plantio 2 a 3 kg/ha (Alcântara e Bufarah, 1988).

A soja perene consorcia-se bem com colômbio, setária e pangola, apresenta relativa aceitabilidade, e produz feno de boa qualidade, sendo bastante utilizado para alimentação animal, por possuir alto teor proteico e por sua agressividade, mantendo uma pastagem associada com gramíneas por vários anos sob ação animal. Sua aceitabilidade é um reflexo da sua qualidade nutricional, que apresenta elevada digestibilidade e conteúdo de proteína bruta em torno de 18% (Rey et al., 1984).

Em 1962, na Austrália foram lançados os cvs. Clarence, Cooper e Tinaroo. No Quênia, em meados da década de 1960, foi descrito o cv. Kenya violet glycine, em Kongwa e em Eldoret, o cv. Kenya white glycine. Em 1976, na Austrália, foi lançado o cv. Malawi, com material obtido no Zimbábue. Na Tanzânia, no mesmo período, foi obtido o cv. Moshi, na região de Itigi. Finalmente, em 1992, no Hawaí, nos Estados Unidos, foi lançado o cv. Tropic Verde, com material oriundo do Zimbábue. Esse último cultivar é um dos mais promissores, mas é morfológicamente semelhante ao cv. Tinaroo, porém com talos mais finos e de melhor qualidade, florescendo um pouco mais cedo, além de ser menos peludo que os cvs. Cooper e Clarence. Tem alta tolerância às secas, alta aceitabilidade e excelente cobertura do solo para controle de erosão, possui rendimentos de matéria seca comparáveis a Tinaroo, Cooper e Clarence, com e sem irrigação (Cook et al., 2008). Em 1999, no Brasil, foi feito o registro dos cultivares “comum”, Clarence, Cooper e Tinaroo no Serviço Nacional de Proteção de cultivares do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2008).

#### **2.7.4. Macrotiloma (*Macrotyloma axillare*)**

O Macrotiloma é uma planta herbácea, liana, perene e volúvel, com origem na África tropical, possui excelente estabelecimento e persistência sob pastejo, rápido desenvolvimento vegetativo, ótima rebrota, principalmente após geada,

boa consorciação com capins de hábitos entouceirados, bom valor nutritivo e boa produção e disseminação natural por sementes (IZ-APTA, 2008).

Sua exigência mínima de precipitação pluviométrica é de 750 a 900 mm ao ano, não tolerando condições de alta umidade e alagamento, mas também não suportando períodos de seca muito longos. Tem crescimento ótimo em condições de temperatura entre 21 e 26°C. Tem baixa aceitabilidade, requerendo um período de adaptação para que os animais passem a ingeri-la, mas, uma vez que o gado se acostuma, ingere-a prontamente. As folhas são amargas, provavelmente indicando níveis de tanino moderadamente altos. Possui razoável produção no início do período seco do ano. Sua propagação é feita por semeadura, usando-se de 3 a 5 kg de sementes/ha (Alcântara e Bufarah, 1988).

O *M. axillare* pode apresentar rendimentos de matéria seca de 10 t/ha/ano, embora, em terras férteis e com irrigação, possa chegar a 16 t/ha/ano e teor de proteína bruta entre 12 e 23% (Cook et al., 2008). Na Austrália, Parbery (1967); avaliando o macrotiloma, obteve 15 MS/ha/ano sem nenhuma adição de N, e 11 ton MS/ha/ano, utilizando 100 kg/ha de N com irrigação. Avaliando a composição química da planta, Parbery (1967) observou teor de 11,9% de PB, enquanto Alcântara e Bufarah (1988) relataram valores de 18,11 e 19,17% de PB para o macrotiloma sem e com adubação, respectivamente. Pádua et al. (2006) observaram a PB variando de 15,10 a 15,75%. Comastri Filho (1984) verificou produção de matéria seca de 11 ton/ha/ano, e Pádua et al. (2004) obtiveram, em média, 11,5 ton MS/ha/ano e 170 kg de sementes/ha. O cultivar Archer, lançado na Austrália em 1966, foi obtido da Estação de Pesquisa em Pastagens em Kitale no Quênia. Esse cultivar tem alto rendimento de forragem nos trópicos, com alta tolerância à seca. No Brasil, em 1984, foi lançado o cultivar Guatá ou IZ-4, que foi obtido de seleção de genótipos do cultivar Archer, produzindo de 10 a 12% a mais em matéria seca, e com rendimentos de sementes mais altos. No Brasil, em 2004, foi lançado o cultivar Java ou Jade, híbrido desenvolvido pelo Instituto de Zootecnia de Nova Odessa, cruzando os cultivares Archer e Guatá e selecionando-os para maior produção de matéria seca e de sementes, baixos níveis de tanino nas folhas e maior resistência a pragas e doenças. Tem apresentado bons resultados em consórcio com *B. brizantha* cv. Victoria, e *Panicum maximum* cvs. Tanzânia, Mombasa e Massai (CIAT, 2008; Cook et al., 2008).

### **3. TRABALHOS**

Os trabalhos a seguir foram desenvolvidos de acordo com as normas para preparação de trabalhos científicos da Revista Brasileira de Sementes.



1 **TETRAZOLIUM TEST FOR EVALUATING *Clitoria ternatea* L. SEEDS QUALITY**

2

3

4

5 **Abstract:** This research verified different methods of pre-conditioning and concentrations  
6 of tetrazolium solutions for quality evaluation of Butterfly pea seed. Seeds collected in  
7 Seropédica county (RJ) e Fortaleza county (CE) were submitted to the following methods  
8 of pre-conditioning: a) scarification with sandpaper and immersion in water of 25°C for 14  
9 hours; and b) immersion in water of 95°C and left in the same water to rest without heating  
10 for 24 hours at 25°C. The teguments of the seeds were removed and the seeds were  
11 immersed in 0,1; 0,3 e 1% tetrazolium solution during 2 hours and 30 minutes at 25°C. To  
12 verify the reliability of the results through the tetrazolium test, germination test, first  
13 counting and index of germination velocity were done. Scarification with sadpaper and  
14 immersion in water of 25°C for 14 hours were the most efficient in pre-conditioning  
15 Butterfly pea seeds and 0,3% tetrazolium solution for 2 hours and 30 minutes at 25°C  
16 allowed evaluating seeds of this species.

17

18 Index terms: germination, seed viability, Butterfly pea.

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

## INTRODUÇÃO

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

A cada ano se assiste ao avanço da produção e uso de sementes forrageiras no Brasil, provocado pelo aumento da demanda por sementes forrageiras de alta qualidade, em função da necessidade da abertura de novas áreas de cerrado e florestas para formação de pastagens (Vilela de Rezende et al., 2007). Em decorrência desse crescimento, também vem aumentando a demanda pelo aprimoramento das tecnologias para determinação da qualidade de sementes no intuito de melhorar as pastagens, pela utilização de sementes de alta qualidade. Desta forma, um dos pontos mais importantes na formação de pastagens é a aquisição de sementes, pois de nada adianta todo o investimento, se a semente não germina (Almeida, 2007). Assim, o conhecimento da qualidade de um lote de sementes depende da disponibilidade de metodologias precisas, que levem a obtenção de resultados confiáveis (McDonald, 1998). Desta forma, o emprego de testes rápidos torna-se uma ferramenta imprescindível para a avaliação da qualidade fisiológica de um lote de sementes, pois agiliza as decisões quanto ao manejo de lotes de sementes durante as etapas de pré e de pós-colheita (Pinto et al., 2008). Para isso, a pesquisa em tecnologia de sementes tem atuado, em caráter permanente, no sentido de desenvolver e/ou aprimorar testes que possibilitem a avaliação da qualidade das sementes, principalmente das espécies que requerem um longo período para completar o teste de germinação (McDonald, 1998). Dentre esses, o teste de tetrazólio tem sido considerado como uma alternativa promissora, devido à rapidez e à eficiência na caracterização da viabilidade, do vigor e da deterioração por umidade, de danos mecânicos, de insetos e de secagem, isto para soja, não para todas as espécies (Vieira et al., 1994). Os dados obtidos neste teste auxiliam no processo de controle de qualidade durante as etapas de colheita, transporte, beneficiamento e armazenamento de sementes (Carvalho, 1986).

A avaliação do vigor da semente como rotina na indústria sementeira tem evoluído à medida que os testes disponíveis vêm sendo aperfeiçoados, fornecendo maior precisão e reprodutibilidade dos resultados - o que é de extrema importância na tomada de decisão pelo sistema de produção e comercialização (Vieira et al., 1994). Segundo Deswal e Chand (1997), o teste de tetrazólio tem sido usado, não somente como uma técnica para estimar a viabilidade, mas também o vigor das sementes. O teste de tetrazólio, desenvolvido por Lakon em 1939 e posteriormente aperfeiçoado e divulgado por Moore em 1972, baseia-se na atividade dos tecidos vivos (AOSA, 1983). O teste de tetrazólio reflete a atividade das enzimas desidrogenases, envolvidas no processo de respiração. Estas enzimas catalisam

1 reações respiratórias nas mitocôndrias durante a glicólise e o ciclo de Krebs. Durante a  
2 respiração ocorre a liberação de íons de hidrogênio, com os quais o sal 2,3,5 trifenil cloreto  
3 de tetrazólio reage formando uma substância de cor vermelha e insolúvel denominada  
4 formazan (França Neto et al., 1998), ou seja, ocorre a hidrogenação do tetrazólio  
5 produzindo o trifenil formazan. Isto torna possível distinguir as partes vivas, coloridas de  
6 vermelho, daquelas mortas que mantêm a sua cor. Para a realização do teste de tetrazólio é  
7 indicado um tratamento de pré-condicionamento que visa a penetração da solução nos  
8 tecidos de interesse a serem avaliados. Em sementes com tegumento impermeável a água,  
9 diversos tratamentos de pré-condicionamento vêm sendo utilizados como corte,  
10 escarificação e embebição em água (Davide et al., 1995; Malavasi et al., 1996; Ferreira et  
11 al., 2001; Mendonça et al., 2001; Oliveira et al., 2005a). Além do pré-condicionamento, a  
12 utilização de solução de tetrazólio em concentração adequada, tempo e a temperatura de  
13 condicionamento e interpretação correta da coloração das sementes, são fundamentais para  
14 que se obtenham resultados confiáveis (Oliveira et al., 2005a).

15 No entanto, metodologias consolidadas e, por conseguinte, mais eficientes para o  
16 teste de tetrazólio, estão restritas a poucas espécies como soja, feijão, milho e algumas  
17 gramíneas forrageiras (Bhering et al., 2005). Para sementes de leguminosas forrageiras,  
18 como é o caso da cunhã, o teste de tetrazólio ainda não tem metodologia definida,  
19 principalmente pela carência de informações sobre a metodologia mais apropriada. Desta  
20 forma, este trabalho objetivou verificar a eficiência de diferentes métodos de pré-  
21 condicionamento e concentrações da solução de tetrazólio para avaliar a qualidade de lotes  
22 de sementes de cunhã.

23

24

25

## MATERIAL E MÉTODOS

26

27 O trabalho foi conduzido no Setor de Produção e Tecnologia de Sementes do  
28 Laboratório de Fitotecnia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro -  
29 UENF, em Campos dos Goytacazes, RJ. As vagens de cunhã, em fase final de maturação,  
30 foram colhidas manualmente nos municípios de Seropédica, RJ, nos meses de maio/junho,  
31 nos anos de 2004 (Sero 04) e 2005 (Sero 05) e em Fortaleza, CE, no ano 2007 (Fortal 07).  
32 Após a colheita, as vagens foram secas à temperatura ambiente (18 - 22°C), sendo então  
33 extraídas as sementes. Os lotes foram beneficiados retirando as sementes visualmente  
34 danificadas, chochas e fragmentos de sementes e, em seguida, as sementes selecionadas

1 foram armazenadas em sacos de polietileno e mantidas até o momento de sua utilização,  
2 em câmara com controle de temperatura e umidade (5 a 10°C; 70% UR). O experimento  
3 foi realizado entre maio de 2004 (colheita do lote Sero 04) e Janeiro de 2008 (montagem  
4 dos testes), portanto, o lote Sero 04 foi armazenado por 43 meses, o lote Sero 05, por 31  
5 meses e o Fortal 07, por 6 meses; além disso, parte do lote Fortal 07 foi utilizado para a  
6 confecção do lote Fortal 07-velha, onde estas sementes foram submetidas, segundo Santos  
7 e Paula (2007), à temperatura de 45°C por 120 horas, para envelhecimento acelerado ou  
8 precoce.

9 *Teor de água:* retiradas da câmara de armazenamento, as sementes foram mantidas por 24  
10 horas em condições ambientais e tiveram seu teor de água determinado pelo método de  
11 estufa a  $105\pm 3^\circ\text{C}$  por 24 horas com quatro repetições de quatro gramas (Brasil, 1992). As  
12 sementes foram quebradas dentro de um saco plástico fechado, com o auxílio de um alicate  
13 e colocadas em recipientes de alumínio com peso pré-determinado, pesadas e colocadas em  
14 estufa (Oliveira et al., 2005b). Os resultados da determinação dos teores de água foram  
15 calculados com base no peso das sementes úmidas (base úmida).

16 *Teste de tetrazólio:* foram testadas duas metodologias para o pré-condicionamento das  
17 sementes de cunhã: a) escarificação manual com lixa d'água nº 100: as sementes foram  
18 lixadas até pequena exposição dos cotilédones com posterior imersão em água por 14  
19 horas, a 25°C; e b) água quente: as sementes foram imersas em água a temperatura de  
20 95°C e deixadas em repouso na mesma água, fora do aquecimento, por 24 horas, a 25°C.  
21 Decorrido estes períodos, os tegumentos das sementes foram cuidadosamente retirados  
22 com Lâmina de Bisturi Aço Inóx nº 15 e as sementes foram colocadas em copos plásticos,  
23 sendo totalmente submersas em solução de tetrazólio (pH 6,5) nas concentrações de 0,1;  
24 0,3 e 1%, mantidas no escuro à temperatura de 25°C, por 2 horas e 30 minutos (Oliveira et  
25 al., 2005b).

26 O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com quatro  
27 repetições de cinquenta sementes para cada tratamento.

28 Após o desenvolvimento da coloração, as sementes foram lavadas em água corrente  
29 e deixadas submersas em água até o momento da avaliação. As sementes submetidas ao  
30 teste de tetrazólio foram cortadas no sentido longitudinal ao centro, abrangendo os  
31 cotilédones e o eixo embrionário. As duas metades foram individualmente examinadas e,  
32 de acordo com a extensão, intensidade dos tons avermelhados, presença de áreas brancas  
33 leitosas, aspecto dos tecidos e localização destas colorações em relação às áreas essenciais  
34 ao crescimento, as sementes foram individualmente colocadas em categorias de viáveis e

1 inviáveis (Figura 1), de acordo com padrões publicados por ISTA (1993), seguindo  
2 modelos descritos por Moore (1972) e Grabe (1976) para diversas espécies agrícolas e  
3 florestais.

4 *Teste de germinação:* inicialmente, as sementes, em quatro repetições de 50, foram  
5 desinfestadas em solução de NaClO 1% por 2 min (Teixeira et al., 2005); após cinco  
6 lavagens com água destilada, as sementes foram secas em papel toalha descartável e foram  
7 escarificadas com lixa d'água nº 100, para provocar pequenas ranhuras no tegumento  
8 (Deminicis et al., 2006), para a superação da dormência causada pela impermeabilidade do  
9 tegumento à água, sendo colocadas para germinar em papel germitest autoclavado  
10 (120°C/20 minutos) e umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do  
11 papel. Foram confeccionados rolos que foram mantidos, de acordo com Brasil (1992), em  
12 incubadora do tipo BOD, a 25°C, sob luz branca constante. A avaliação do teste de  
13 germinação foi realizada diariamente a partir do 4º dia até o 10º dia após a montagem do  
14 teste. A classificação das plântulas como normais ou anormais foi realizada de acordo com  
15 Brasil (1992), considerando normais, as plântulas com todas as estruturas essenciais em  
16 perfeito desenvolvimento.

17 *Primeira contagem do teste de germinação:* os valores da primeira contagem foram  
18 obtidos no 4º dia após a montagem do teste de germinação (Brasil, 1992).

19 *Índice de velocidade de germinação:* foi calculado conforme fórmula proposta por  
20 Maguire (1962):  $IVE=(E_1/D_1)+(E_2/D_2)+(E_n/D_n)$ , em que: E=número de plantas emergidas,  
21 na primeira, segunda, ..., última contagem e D= número de dias da semeadura à primeira,  
22 segunda, ..., última contagem.

23 Os dados obtidos nos testes de tetrazólio, germinação, primeira contagem, índice de  
24 velocidade de germinação, foram transformados em  $\arcsen \sqrt{x/100}$  e submetidos à análise  
25 de variância. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%, utilizando o  
26 programa SISVAR (Ferreira, 2000).

27

28

29

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

30

31 No momento da realização dos testes de tetrazólio e germinação, as sementes que  
32 constituíram os lotes de cunhã Fortal 07, Sero 04 e Sero 05 apresentavam teor de água em  
33 torno de 25% e o lote Fortal 07-velha apresentou 10%. Nas sementes submetidas ao  
34 método de pré-condicionamento com água quente, houve dificuldade de rompimento do

1 tegumento para a retirada do embrião, pois o tegumento não amoleceu completamente em  
2 todas as sementes. Além disso, foram observadas manchas escuras nos cotilédones das  
3 sementes de todos os lotes após a imersão na solução de tetrazólio, o que dificultou a  
4 interpretação do teste concordando com o relatado por Oliveira et al. (2005b), que,  
5 estudando a eficiência de métodos de pré-condicionamento e concentrações da solução de  
6 tetrazólio na avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium*),  
7 observaram que o pré-condicionamento com água quente forma manchas mais escuras nas  
8 sementes. De acordo com Copeland et al. (1959), isso se dá, provavelmente, porque o pré-  
9 condicionamento com água quente antes da coloração pode provocar fraturas de estruturas  
10 internas das sementes e estimular atividade enzimática, justamente por causa da rápida  
11 absorção de água. Entretanto, Baskin e Baskin (1998) observaram que o tratamento com  
12 água quente foi eficiente como pré-condicionamento de sementes de *Senna marilandica* e  
13 *Senna obtusifolia* para o teste de tetrazólio. Da mesma forma, Eira et al. (1993) verificaram  
14 que a água quente a 100°C, com posterior resfriamento, também não foi eficiente para o  
15 pré-condicionamento de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Jacarandá da Bahia).  
16 Todas as três espécies acima mencionadas são Fabáceas herbáceas e/ou arbustivas e  
17 possuem sementes com dormência tegumentar, por conta da impermeabilidade do  
18 tegumento à água, como a *Clitorea ternatea*.

19 Quanto ao tratamento escarificação manual com lixa d'água, no momento da  
20 interpretação do teste, foi observado que a região com ranhuras estava descolorida ou com  
21 coloração vermelho-intenso justamente devido a danos causados pela lixa. Todavia, estes  
22 danos afetaram de forma branda apenas a parte externa dos cotilédones, não prejudicando a  
23 interpretação dos resultados. Outros autores como Davide et al. (1995), Malavasi et al.  
24 (1996) e Oliveira et al. (2005b) também utilizaram este tipo de pré-condicionamento em  
25 sementes de espécies florestais, como *Platygyamus regnellii*, *Dipteryx alata* e  
26 *Peltophorum dubium*, e observaram resultados similares ao verificado neste estudo.

27 Os resultados apresentados na Tabela 1 indicam que não houve diferença  
28 significativa entre os testes de germinação e tetrazólio para o lote Fortal 07 e Fortal 07-  
29 velha, contudo, nos lotes Sero 05 e Sero 04, a germinação das sementes foi superestimada  
30 quando comparada à viabilidade pelo teste de tetrazólio, em todas as concentrações  
31 testadas, provavelmente devido ao fato deste teste não detectar a presença de patógenos,  
32 que podem ter causado declínio no teste de germinação (Seneewong et al., 1991).

33 O teste de tetrazólio, tanto na concentração de 0,1 como na de 0,3%, possibilitou  
34 distinguir os lotes Fortal 07 e os lotes Sero 05 e Sero 04 e o lote Fortal 07-velha quanto à

1 viabilidade, apesar de os três lotes primeiros lotes serem considerados de alta qualidade, já  
2 que apresentaram altos valores nos testes de germinação, acima de 80 (Tabela 1). Assim,  
3 para validar a metodologia de tetrazólio para determinada espécie devem ser testados lotes  
4 com diferentes níveis de qualidade, para se ter mais certeza se o método testado realmente  
5 é confiável para uma dada espécie, por isso é muito importante que entre os lotes testados  
6 esteja incluído um lote de menor qualidade fisiológica, como é o caso do lote Fortal 07-  
7 velha, pois nestes é que surgem as maiores dificuldades e dúvidas na interpretação dos  
8 tecidos/regiões vivos e não vigorosos.

9 De acordo com Krzyzanowski et al. (1999), a busca por metodologia adequada na  
10 utilização do teste de tetrazólio deve ser fundamentada para a simples distinção de tecidos  
11 viáveis e inviáveis e na aptidão de diferenciar lotes de qualidade fisiológica distintas.  
12 Quanto à coloração obtida nos embriões das sementes nas diferentes concentrações  
13 estudadas, para as sementes do lote Fortal 07, observou-se uma coloração rósea nos tecidos  
14 vigorosos, quando foi utilizada a concentração de 0,3% da solução de tetrazólio, enquanto  
15 que para as sementes do lote Sero 05 e Sero 04, foi observada coloração rósea mais fraca.  
16 Os tecidos vivos das sementes do lote Sero 05 e Sero 04 apresentaram coloração rósea  
17 intensa quando imersos na concentração de 1%, o que não foi observado no lote Fortal 07.  
18 No lote Fortal 07-velha os tecidos vivos apresentaram coloração vermelho intensa,  
19 vermelhas-carmim forte, mas em sua maioria as sementes apresentaram tecidos com  
20 coloração original (verde) ou branco-leitoso e textura flácida.

21 Mendonça et al. (2006) observaram que o pré-condicionamento com imersão em  
22 água por 48 horas, com retirada do tegumento, e imersão das sementes em solução de  
23 tetrazólio a 0,075% por 60-120 minutos a 35-40°C é o método mais eficiente para  
24 determinar a viabilidade de sementes de mangaba-brava (*Lafoensia pacari* St. Hil.).  
25 Zucareli et al. (2001), relataram que para as sementes de *Albizia hasslerri*, a embebição,  
26 seguida pela retirada do tegumento e solução de tetrazólio com concentração de 0,1% por  
27 cinco horas de coloração, mostrou-se como alternativa viável na avaliação da viabilidade  
28 pelo teste de tetrazólio. Nascimento e Carvalho (1998) constataram que o pré-  
29 condicionamento por 24 horas, à temperatura de 30°C, expondo os sementes de *Genipa*  
30 *americana* à solução de tetrazólio a 0,25%, durante duas horas sob 40°C, foi o  
31 procedimento mais eficiente para visualizar as categorias das sementes em análise.  
32 Segundo Añez et al. (2007), a concentração da solução de tetrazólio a 0,5%, em  
33 temperatura de incubação de 30°C e tempo de desenvolvimento de coloração de 90  
34 minutos é indicada como metodologia adequada para a avaliação da viabilidade de

1 sementes de *Jatropha elliptica*. Oliveira et al. (2005b) relataram que a concentração 0,1%  
2 da solução de tetrazólio por 150 minutos a 25°C permitiu avaliar a qualidade de lotes de  
3 sementes de *Peltophorum dubium*. Fernandes et al. (2007) verificaram que a imersão em  
4 água por 24 horas, seguida da retirada do tegumento e posterior embebição em solução de  
5 tetrazólio a uma concentração de 0,5% por quatro horas, permite a melhor visualização da  
6 coloração dos tecidos de sementes de coquinho-azedo (*Butia capitata* (Mart.) Becc).

7 No presente estudo, contrastando com o verificado pelos autores acima, a  
8 concentração de 0,3% da solução de tetrazólio permitiu obter coloração mais nítida quando  
9 comparada às demais concentrações, contudo permaneceu dentro da faixa utilizada pelos  
10 mesmos (concentração de 0,075 a 0,5%).

11

12

13

### CONCLUSÕES

14

15 O método de escarificação manual utilizando lixa e posterior embebição em água  
16 por 14 horas, a 25°C apresenta maior eficiência no pré-condicionamento de sementes de  
17 cunhã.

18 No teste de tetrazólio, a concentração de 0,3% da solução de tetrazólio por 2 horas  
19 e 30 minutos, a 25°C permite avaliar com clareza a viabilidade de sementes de *Clitorea*  
20 *ternatea* L..

21

22

23

### AGRADECIMENTOS

24

25 UENF - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

26 FAPERJ - Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de  
27 Janeiro.

28 UFRRJ - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

29 UFC - Universidade Federal do Ceará.

30 EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

31 PESAGRO-RIO - Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro.

32

33

**REFERÊNCIAS**

- 1  
2  
3 ALMEIDA, A.P. (2007). Manejo de pastagens. Viçosa, MG, CPT, 380p.  
4  
5 AÑEZ, L.M.M.; COELHO, M.F.B.; ALBUQUERQUE, M.C.F.E.; DOMBROSKI, J.L.D.;  
6 MENDONCA, E.A.F. Padronização da metodologia do teste de tetrazólio para sementes  
7 de *Jatropha elliptica* M. Arg. (Euphorbiaceae). Revista Brasileira de Plantas Medicinai,  
8 v.9, p.82-88, 2007.  
9  
10 AOSA - Association of Official Seed Analysts. **Seed vigor testing handbook**.  
11 Washington, 1983. 93p.  
12  
13 BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. Role of temperature and light in the germination ecology  
14 of buried seeds of weedy species of disturbed forests. II. *Erechtites hieracifolia*. **Canadian**  
15 **Journal of Botany**, Ottawa, v.74, n.2, p.2002-2005, 1996.  
16  
17 BHERING, M.C.; DIAS, D.C.F.S.; BARROS, D.I. Adequação da metodologia do teste de  
18 tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. **Revista**  
19 **Brasileira de Sementes**, Londrina, v.27, n.1, p.176-182, 2005.  
20  
21 BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de**  
22 **sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.  
23  
24 CARVALHO, N.M. Vigor de sementes. In: SEMANA DE ATUALIZAÇÃO EM  
25 PRODUÇÃO DE SEMENTES, 1, 1986, Piracicaba. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill,  
26 p.207-223, 1986.  
27  
28 COPELAND, T.G.; BRUCE, C.F.; MIDYETT JUNIOR, Y.W. The unofficial application  
29 of tetrazolium tests as an AID in checking germination cains. **Proceedings of the**  
30 **Association of Official Seed Analysts**, Oklahoma, v.49, p.134-141, 1959.  
31  
32 DAVIDE, A.C.; BOTELHO, S.A.; MALAVASI, M.M.; OLIVEIRA, L.M. Avaliação da  
33 viabilidade de sementes de pau-pereira (*Platycyamus regnellii*). In: CONGRESSO

- 1 BRASILEIRO DE SEMENTES 5, 1995, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: ABRATES,  
2 1995. 178p.  
3
- 4 DEMINICIS, B.B.; ALMEIDA, J.C.C.; BLUME, M.C.; ARAÚJO, S.A.C.; PÁDUA, F.T.;  
5 ZANINE, A.M.; JACCOUD, C.F.; Superação da dormência de sementes de oito  
6 leguminosas forrageiras tropicais. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v.55, n.212, p.401-  
7 404, 2006.  
8
- 9 DESWAL, D.P.; CHAND, U. Standardization of the tetrazolium test for viability  
10 estimation in ricebean (*Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi e Ohashi) seeds. **Seed Science and**  
11 **Technology**, Zurich, v.25, p.409-417, 1997.  
12
- 13 EIRA, M.T.S.; FREITAS, R.W.A.; MELO, C.M.C. Superação da dormência de sementes  
14 de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong– Leguminosae. **Revista Brasileira de**  
15 **Sementes**, Brasília, v.15, n.2, p.177-181, 1993.  
16
- 17 FERNANDES, R.C.; MAGALHÃES, H.M.; LOPES, P.S.N.; BRANDÃO JÚNIOR, D.S.;  
18 FERNANDES, R.C.; GOMES, J.A.O.; PAULINO, M.A.O.; CARNEIRO, P.A.P.  
19 Elaboração da metodologia de aplicação do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade  
20 das sementes de coquinho-azedo (*Butia capitata* (Mart.) Becc). **Revista Brasileira de**  
21 **Agroecologia**, Porto Alegre, v.2, n.2, p.1004-1007, 2007.  
22
- 23 FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windons: versão 4.0. In:  
24 REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL  
25 DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, p. 225-258, 2000.  
26
- 27 FERREIRA, R.A.; VIEIRA, M.G.G.C.; PINHO, E.V.R.V.; DAVIDE, A.C. ; TONETTI,  
28 O.A.O. Morfologia de sementes e plântulas e avaliação da viabilidade da semente de  
29 sucupira-branca (*Pterodon pubescens* Benth. Fabaceae) pelo teste de tetrazólio. **Revista**  
30 **Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.1, p.108-115, 2001.  
31
- 32 FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P. **O teste de tetrazólio em**  
33 **sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1998. 72p. (EMBRAPA-CNPSO,  
34 Documentos, 116).

- 1  
2 GRABE, D. F. **Manual do teste de tetrazólio**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 85p.  
3  
4 ISTA - International Rules for Seed Testing. **Seed Science and Technology**. Zurich, 1993.  
5 363p. Supplement.  
6  
7 KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (eds.). **Vigor de**  
8 **sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218p.  
9  
10 MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling  
11 emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p. 176-177, 1962.  
12  
13 MALAVASI, M.M.; DAVIDE, A.C.; OLIVEIRA, L.M.; BOTELHO, S.A.; TONETTI,  
14 O.A. Avaliação da viabilidade de sementes de *Dipteryx alata* Voq. - Fabaceae (baru)  
15 através do teste de tetrazólio. In: SEMINÁRIO PANAMERICANO DE SEMILLAS, 15.;  
16 WORKSHOP SOBRE MARKETING EM SEMENTES E MUDAS, 3., 1996, Gramado.  
17 **Anais...** Gramado: CESM/FELAS, 1996. 43p.  
18  
19 McDONALD, M.B. Seed quality assessment. **Seed Science Research**, Wallingford, v.8,  
20 p.265-275, 1998.  
21  
22 MENDONÇA, E.A.F ; COELHO, M.F.B ; LUCHESE, M. Teste de tetrazólio em sementes  
23 de mangaba-brava (*Lafoensia pacari* St. Hil. - Lythraceae). **Revista Brasileira de Plantas**  
24 **Medicinais**, Botucatu, v.8, n.2, p.33-38, 2006.  
25  
26 MENDONÇA, E.A.F.; RAMOS, N.P.; PAULA, R.C. Viabilidade de sementes de *Cordia*  
27 *trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel (louro-pardo) pelo teste de tetrazólio. **Revista**  
28 **Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.2, p.64-71, 2001.  
29  
30 MOORE, R. P. Interpretation of color differences in tetrazolium testing. **Seed**  
31 **Technologist News**, v.44, n.3, p.22-24, 1972.  
32

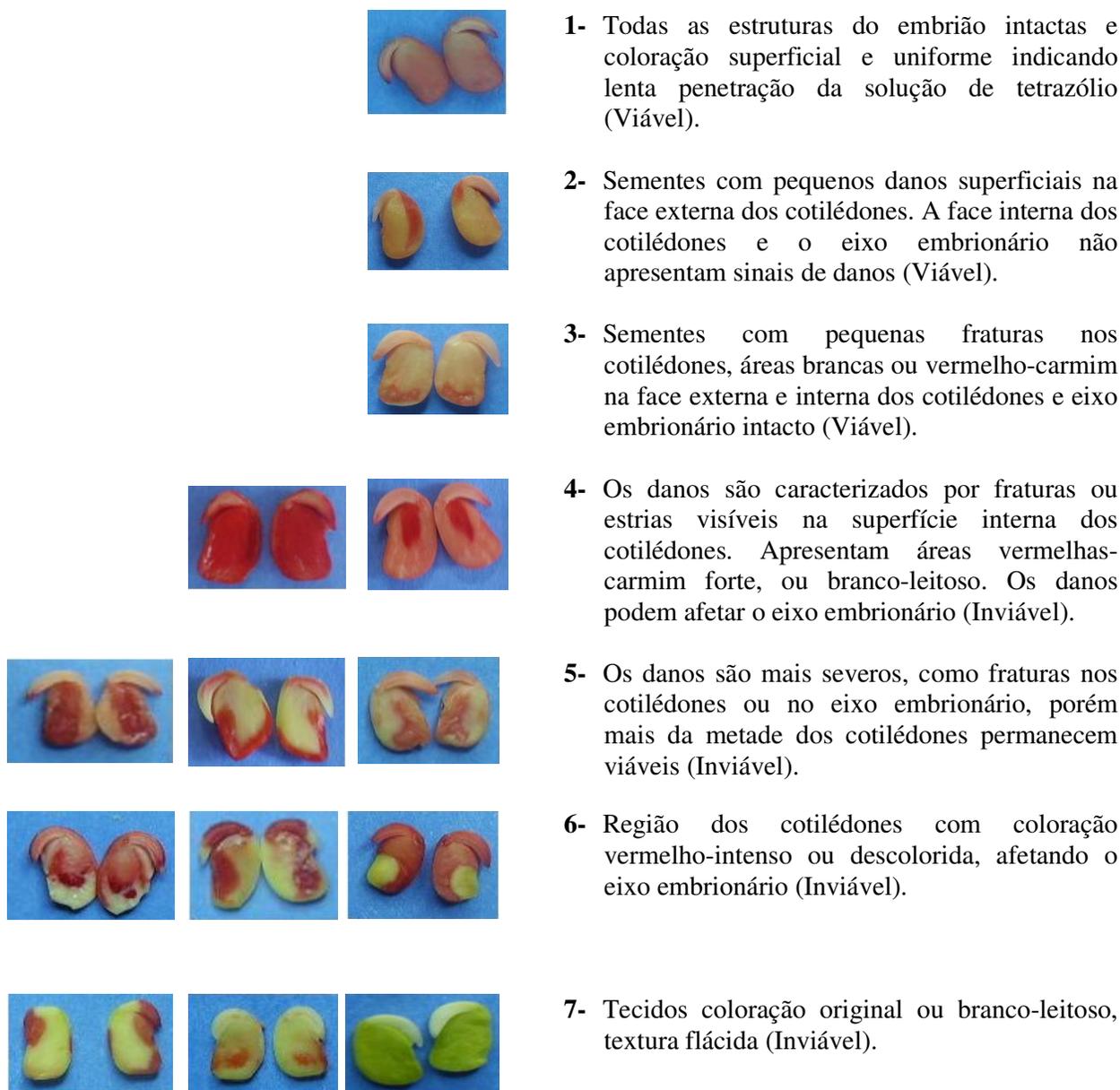
- 1 NASCIMENTO, W.M.O.; CARVALHO, N.M. Determinação da viabilidade de sementes  
2 de jenipapo (*Genipa americana* L.) através do teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de**  
3 **Sementes**, Brasília, v.20, n.2, p.470-474, 1998.
- 4
- 5 OLIVEIRA, L. M. ; CARVALHO, M. L. M. ; NERY, M. C. Teste de tetrazólio em  
6 sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *T. impetiginosa* (Martius ex A. P. de  
7 Candolle) Standley Bignoniaceae.. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 2, p.  
8 169-174, 2005a.
- 9
- 10 OLIVEIRA, L.M., CARVALHO, M.L.M., DAVIDE, A.C. Teste de tetrazólio para  
11 avaliação da qualidade de sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert -  
12 Leguminosae Caesalpinioideae, **Cerne**, Lavras, v.11, n.2, p.159-166, 2005b.
- 13
- 14 SANTOS, S.R.G.; PAULA, R.C. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do  
15 vigor de lotes de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Downs  
16 (BRANQUILHO) – EUPHORBIACEAE. **Revista Instituto Florestal**, São Paulo, v.19,  
17 n.1, p. 1-12, 2007.
- 18
- 19 SENEWONG, A.; BASKIN, C.C.; BATSON JUNIOR, W.E. The relationship between  
20 internal disease organisms and germination of gin run cottonseed (*Gossypium hirsutum* L.).  
21 **Journal of Seed Technology**, Lansing, v.15, n.2, p.91-96, 1991.
- 22
- 23 TEIXEIRA, H., MACHADO, J.C., ORIDE, D. et al. Técnica de restrição hídrica: efeito  
24 sobre *Acremonium strictum*, protrusão de sementes e obtenção de sementes de milho  
25 infetadas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, n.2, 109-114, 2005.
- 26
- 27 VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M.; SADER, R. Testes de vigor e suas possibilidades de  
28 uso. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (Eds.). **Testes de vigor em sementes**.  
29 Jaboticabal: FUNEP, 1994, p.31-47.
- 30
- 31 VILELA de REZENDE, A.; ALMEIDA, G.B.S.; VILELA, H.H.; LANDGRAF, P.R.;  
32 NOGUEIRA, D.A.; CORREA, V.R.S. (2007). Germinação de sementes de gramíneas  
33 misturadas ao adubo químico para plantio. In: CONGRESSO DE FORRAGICULTURA E  
34 PASTAGENS DA UFLA/NEFOR, 2, **Anais...**Lavras-MG, 1-3.

1

2 ZUCARELI, C.; MALAVASI, M.M.; FOGAÇA, C.A.; MALAVASI, V.C. Preparação e  
3 coloração de sementes de farinha seca (*Albizia hasslerii* (Chodat) Bur.) para o teste de  
4 tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.2, p.186-191, 2001.

5

6



1

2 **Figura 1. Categorias de sementes de *Clitorea ternatea* L. submetidas ao teste de**  
 3 **tetrazólio.**

4

5

6

7

8

9

10

1 **TABELA 1. Resultados dos testes de tetrazólio e de germinação (TG), Primeira**  
 2 **contagem do teste de germinação (1ªC) e índice de velocidade de germinação (IVG)**  
 3 **em sementes de *Clitorea ternatea* L. (TZ 0,1 = 0,1% da solução de tetrazólio, TZ 0,3 =**  
 4 **0,3 % da solução de tetrazólio e TZ 1,0 = 1% da solução de tetrazólio).**  
 5

Testes	Lotes				
	Fortal 07	Sero 05	Sero 04	Fortal 07-velha	CV%
TZ 0,1	91,50 Aa	89,50 Bab	84,80 BCb	13,50 Ac	1,78
TZ 0,3	<b>92,80 Aa</b>	<b>90,50 Ab</b>	<b>90,50 Ab</b>	14,75 Ac	2,01
TZ 1,0	89,70 Bab	91,80 Aa	89,50 ABb	13,70 Bc	1,99
TG	90,50 Aa	86,00 Cb	84,75 Cb	12,31 Ac	0,99
1ªC	79,65 Ca	77,40 Cb	76,28 Cb	10,24 Cc	0,94
IVG	17,46 a	5,88 b	5,73 b	1,26c	4,75
CV%	2,00	1,27	1,80	2,35	

6 \*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si, pelo teste  
 7 de Tukey, a 5% de probabilidade.

8  
 9  
 10  
 11  
 12  
 13  
 14  
 15  
 16  
 17  
 18  
 19  
 20  
 21  
 22  
 23  
 24

1                   **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE**  
2                   **LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS SUBMETIDAS À**  
3                   **PERMANÊNCIA EM MISTURA MINERAL PARA BOVINOS**  
4  
5  
6

7   **Resumo:** O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial fisiológico de sementes de cunã  
8 (*Clitorea ternatea*), estilosantes (*Stylosanthes* spp. cv. Campo Grande), macrotiloma  
9 (*Macrotyloma axillare*) e soja perene (*Neonotonia wightii*) submetidas à permanência em  
10 mistura mineral para bovinos, pelo teste de germinação, pelo teste de envelhecimento  
11 acelerado e pelo teste de condutividade elétrica, com o intuito de dispersá-las na pastagem  
12 pelas fezes bovinas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em  
13 esquema fatorial 4x7 (quatro espécies, sete tratamentos), com quatro repetições. As  
14 sementes permaneceram na mistura mineral por: 0, 12, 24, 36, 48, 72 e 96 horas. O estresse  
15 salino, até 24 horas, não representou risco para a germinação das sementes. Assim, a  
16 introdução de sementes em mistura mineral para bovinos para a dispersão de leguminosas  
17 na pastagem pode ser utilizada.

18

19

20 Termos para indexação: Suplemento mineral, germinação, teor de umidade e vigor.

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

1    **EVALUATION THE PHYSIOLOGICAL POTENTIAL OF TROPICAL FORAGES**  
2           **LEGUMES SEEDS SUBMITTED TO THE PERMANENCE IN MINERAL**  
3                   **MIXTURE FOR BOVINES**

4  
5  
6  
7    **Abstract:** This paper studied physiologic potential of seeds of butterfly pea (*Clitoria*  
8    *ternatea*), stylo (*Stylosanthes* spp. cv. Campo Grande), archer (*Macrotyloma axillare*) and  
9    *perennial soybean* (*Neonotonia wightii*) submitted to the permanence in mineral mixture  
10   for bovine, for the germination test, for the accelerated aging test and for the electric  
11   conductivity test, with the intention of dispersing them in the pasture by the bovine feces.  
12   A completely randomized design at factorial scheme 4x7 (four species, seven treatments)  
13   with four repetitions was used. The seeds stayed in the mineral mixture for: 0, 12, 24, 36,  
14   48, 72 and 96 hours. The saline stress, up to 24 hours, didn't represent risk for the  
15   germination of the seeds. Like this, the introduction of seeds in mineral mixture for  
16   bovines for dispersion of legumes in the pasture can be used.

17  
18

19   Index terms: Mineral supplement, germination, humidity rate and vigor.

20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33

## INTRODUÇÃO

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

O estudo da avaliação de leguminosas forrageiras com a finalidade de aproveitá-las em pastagens já foi realizado por diversos pesquisadores, porém, um dos maiores problemas encontrados é a fase de estabelecimento. Segundo Valentim e Carneiro (1998) e Tonin (2004), a forma mais barata de introduzir leguminosas em pastagens é utilizar as vacas como “plantadeiras”, ou seja, o produtor introduz sementes na dieta das vacas ou no sal mineral para bovinos, para que ocorra quebra da dormência, e os próprios animais fazem a disseminação. Apesar de vários estudos terem sido realizados para avaliar várias formas de introdução de leguminosas em pastagem (Valentim et al., 2002; Ribeiro et al., 2007), poucos são os trabalhos que buscam o desenvolvimento da técnica de dispersão de sementes, por meio da introdução de sementes em concentrado ou mistura mineral para bovinos, caprinos, ovinos e/ou equinos (Deminicis et al., 2007, Rezende et al. 2007 e Silva 2008). Atualmente muitos produtores estão tentando consorciar suas pastagens com o estilosantes por meio da mistura destas sementes no sal fornecido ao rebanho, pois acreditam que ao ingerir o sal no cocho, os animais ingerem as sementes e estas encontram ambiente propício para germinação quando são excretadas (Rezende et al., 2007).

Os efeitos dos sais no comportamento germinativo das sementes e no crescimento inicial de plântulas são conhecidos há muito tempo, como: a redução da porcentagem e velocidade de germinação, o efeito tóxico no embrião dificultando a absorção de água pelas sementes e raízes, como facilitando a entrada de água em concentrações tóxicas (Campos e Assunção, 1990). Isto ocorre devido à seca fisiológica como também à diminuição do potencial hídrico e ao aumento de concentração de íons no embrião (Prisco e O’leary, 1970), sendo considerado como um fator limitante para o desenvolvimento e produtividade de plantas (Allakhverdiev et al., 2000). Sobre os mecanismos de adaptação à salinidade, muitos trabalhos têm sido realizados referentes à fisiologia da resistência das plantas à salinidade (Silva et al., 1992; Wang e Nil 2000). E as respostas biológicas à alta salinidade em plantas têm sido mais discutidas ultimamente (Ehret e Plant, 1999; Zhu, 2002; Munns, 2005).

No entanto, são poucos os trabalhos que avaliam os danos causados pela permanência de sementes em algum tipo de sal (ex: cloreto de sódio), por determinado período de tempo, e que após serem retiradas desta condição são semeadas em condições ideais de umidade, luz, temperatura e oxigênio (Deminicis et al., 2007 e Rezende et al. 2007).

1  
2 A avaliação do potencial fisiológico das sementes é componente fundamental de  
3 determinação da qualidade de sementes, pois constitui referência sobre o desempenho das  
4 plantas (Torres e Negreiros, 2008). O teste de germinação conduzido em laboratório sob  
5 condições favoráveis de substrato, umidade e temperatura, geralmente superestima o  
6 potencial fisiológico de lotes de sementes sendo, portanto, cada vez maior a necessidade de  
7 aprimoramento dos testes destinados à avaliação do vigor de sementes, principalmente, no  
8 que diz respeito à obtenção de informações consistentes e, de preferência, em período de  
9 tempo relativamente curto (Torres, 2002). Em função disso, é importante avaliar o vigor  
10 das sementes como complemento às informações fornecidas pelo teste de germinação.

11 Para isso, vários procedimentos têm sido usados, dentre eles o teste de  
12 envelhecimento acelerado e o de condutividade elétrica, usando-se a solução de embebição  
13 das sementes. O teste de envelhecimento acelerado avalia a reação das sementes quando  
14 expostas a temperatura e umidade relativa elevadas. Sob essas condições, as de menor  
15 potencial fisiológico deterioram-se mais rapidamente do que as mais vigorosas, permitindo  
16 identificar diferenças entre as amostras avaliadas (TeKrony, 1995). O teste de  
17 condutividade elétrica baseia-se no princípio de que com o processo de deterioração ocorre  
18 a lixiviação dos constituintes celulares das sementes embebidas em água devido à perda da  
19 integridade dos sistemas celulares. Assim, baixa condutividade significa alta qualidade da  
20 semente e alta condutividade, ou seja, maior saída de lixiviados da semente sugere o menor  
21 vigor desta, devido ao aumento de eletrólitos (Vieira e Krzyzanowski, 1999).

22 Em função disso, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial fisiológico de  
23 sementes de cunhã (*Clitoria ternatea*), estilosantes (*Stylosanthes* spp. cv. Campo Grande),  
24 macrotiloma (*Macrotyloma axillare*) e soja perene (*Neonotonia wightii*) submetidas à  
25 permanência em mistura mineral para bovinos, pelo teste de germinação, pelo teste de  
26 envelhecimento acelerado e pelo teste de condutividade elétrica, com o intuito de oferecer  
27 aos bovinos sementes misturadas no sal mineral visando usar como veículo de ingestão,  
28 para dispersá-las na pastagem pelas fezes bovinas.

29

30

## 31 MATERIAL E METÓDOS

32

33 O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitotecnia da UENF, em Campos  
34 dos Goytacazes - RJ, entre agosto e setembro de 2007. As espécies utilizadas foram:

1 *Clitorea ternatea*, *Stylosanthes* spp. cv. Campo Grande, *Neonotonia wightii* e *Macrotyloma*  
2 *axillare*.

3 O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema  
4 fatorial 4x7 (4 leguminosas, 7 períodos de permanência), com quatro repetições. Os  
5 tratamentos foram os seguintes: A) permanência em mistura mineral para bovinos por: A)  
6 12; B) 24; C) 36; D) 48; E) 72; E) 96 e F) zero horas. A composição da mistura mineral  
7 “completa” para gado de corte foi a seguinte, por kg do produto: Ca = 172,93 g; P = 41,8 g,  
8 Na = 157,09 g; Mg = 7,14 g; S = 26,39 g; Fe = 1598,8 mg; F = 418 mg; Co = 80 mg; Cu =  
9 1250 mg; I = 97,6 mg; Se = 37,5 mg; Zn = 3800 mg; Mn = 764,4 mg e Solubilidade do P  
10 em ácido Cítrico à 2% = 90%. Sendo o teor de sódio da mistura mineral utilizada (15%)  
11 semelhante ao teor encontrado em sal branco para bovinos (16%). Para a confecção dos  
12 tratamentos, foram utilizadas 200 gramas de mistura mineral e 20 gramas de sementes para  
13 cada período de permanência, por repetição. Após os tratamentos, 50 sementes por  
14 repetição foram lavadas com água destilada (4 lavagens com 50 mL), secas com papel  
15 toalha e escarificadas com lixa d’água nº100, até serem observadas ranhuras no tegumento  
16 das sementes para a quebra da dormência. Após a escarificação, foi realizado o teste de  
17 germinação para determinação dos efeitos do estresse salino sobre a porcentagem de  
18 germinação (PG%) e índice de velocidade de germinação (IVG), quando as sementes  
19 foram colocadas em germinador tipo BOD à 25°C, com 12 horas de luz, durante 10 dias.  
20 Foram realizadas contagens diárias de sementes germinadas. O IVG foi calculado  
21 conforme Maguire (1962). Para determinação dos efeitos do estresse salino sobre o teor de  
22 umidade das sementes (U%), após os tratamentos, as sementes foram pesadas e levadas,  
23 em recipientes de alumínio, para a estufa de desidratação (105°C). Para a determinação do  
24 teor de umidade, foi utilizada a fórmula:  $U\% = ((P_{inicial} - P_{final}) \times 100) / P_{inicial}$ .

25 Para o teste de envelhecimento acelerado, foram separadas 5g de sementes de cada  
26 espécie por tratamento (períodos de permanência em mistura mineral) por repetição, as  
27 quais foram lavadas com água destilada (4 lavagens com 50 ml), secas em papel toalha e  
28 colocadas sobre tela em caixa gerbox contendo 40 ml de água destilada (Marcos Filho et  
29 al., 1987), mantidas a 41°C por períodos de 48 horas (Garcia e Menezes, 1999). Decorrido  
30 esse período de envelhecimento, quatro repetições de 50 sementes por tratamento foram  
31 colocadas para germinar conforme procedimento descrito para o teste de germinação  
32 (Brasil, 1992).

33 Para o teste de condutividade elétrica, foram separadas 50 sementes inteiras de cada  
34 espécie, por tratamento (períodos de permanência em mistura mineral), por repetição, as

1 quais foram lavadas com água destilada (4 lavagens com 50 ml), secas em papel toalha,  
2 pesadas e colocadas em copos plásticos descartáveis com capacidade para 100 ml;  
3 adicionaram-se 75 ml de água destilada e foram mantidas por 24 horas em câmara a 25°C.  
4 Após este período, determinou-se a condutividade da solução na qual encontravam-se  
5 imersas as sementes, a leitura foi realizada em condutivímetro DIGIMED modelo DM-31,  
6 sendo o valor obtido dividido pelo peso das sementes (Vieira e Carvalho, 1994), e os  
7 resultados foram expressos em  $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$  (Vieira e Krzyzanowski, 1999). Os resultados da  
8 germinação foram expressos em porcentagem, sendo submetidos a análise da variância,  
9 utilizando o teste de Tukey, a 5% de significância para a comparação das médias. Os  
10 resultados foram transformados, para fins de análise de variância, em  $\arcsen\sqrt{x}/100$ ,  
11 exceto os dados referentes ao índice de velocidade de germinação e primeira contagem e  
12 condutividade elétrica.

13

14

15

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

16

17 Na Tabela 1, pode-se observar os resultados obtidos para porcentagem de  
18 germinação (TG), índice de velocidade de germinação (IVG), teor de água (TA), primeira  
19 contagem da germinação (1ª TG), condutividade elétrica (CE) e envelhecimento acelerado  
20 (EA) das sementes de cunhã, estilosantes, soja perene e macrotiloma submetidas a  
21 diferentes períodos de estresse salino, em mistura mineral para bovinos.

22 Quanto à porcentagem de germinação, os valores, para todas as espécies,  
23 decresceram à medida que se aumentou o período de permanência na mistura mineral, no  
24 entanto não apresentaram comportamento de redução drástica deste percentual nas  
25 primeiras 24 horas de estresse salino, apesar de, ao fim do período total de estresse (96  
26 horas), reduzir pela metade os valores da porcentagem de germinação das sementes. A  
27 redução observada no presente estudo foi em torno de 39,1; 45,5; 49,6 e 11,6% para cunhã,  
28 estilosantes, soja perene e macrotiloma, respectivamente. Foi observado que a resposta das  
29 espécies não seguiu um padrão único, justamente porque há variações na sensibilidade  
30 relativa das espécies ao estresse salino, refletida nas diferenças observadas na germinação  
31 e desenvolvimento de plantas de diferentes espécies. Este comportamento pode ser  
32 justificado pelo fato de que acentuada redução no teor de água coincide com a máxima  
33 germinação e vigor (Carvalho e Nakagawa, 2000). Outro motivo, segundo Deminicis et al.  
34 (2007), pode ter sido a forma como as sementes foram submetidas à mistura mineral,

1 diferentemente de outros estudos que submeteram as sementes à estresse em soluções  
2 salinas. Em contraste, a sensibilidade aumenta em sementes de espécies que apresentam  
3 maior teor de água em seus tecidos antes do estresse e durante o desenvolvimento das  
4 plantas após a germinação (Mass e Hoffmann, 1977). A absorção de íons de sais pelas  
5 sementes pode determinar distúrbio no balanço osmótico das células e toxidez. Por outro  
6 lado, esse comportamento pode ser influenciado pela disponibilidade hídrica em função do  
7 tipo de substrato e potencial da água no mesmo (Lopes e Macedo, 2008).

8 De acordo com Lopes e Macedo (2008), o sucesso no processo germinativo é  
9 dependente do movimento de água através dos tecidos que envolvem a semente e a  
10 presença de sais interfere no potencial hídrico, reduzindo o gradiente de potencial entre o  
11 substrato e a superfície da semente, restringindo a captação de água pela semente. Desta  
12 forma, o estresse salino, pode ser considerado como um estresse hídrico antes mesmo da  
13 germinação e implicando em danos às sementes e à germinação das mesmas. Isto porque a  
14 germinação é caracterizada pela protrusão da raiz primária, que apenas se completa quando  
15 o teor de água da semente exceder um valor crítico que possibilite a ativação dos processos  
16 metabólicos promotores do crescimento do eixo embrionário (Tambelini e Perez, 1998).  
17 Como o estresse salino afeta a qualidade das sementes, a resposta das mesmas é  
18 comprometida, pois o aumento da concentração de sais no substrato determina redução no  
19 potencial hídrico das sementes, resultando em menor capacidade de absorção de água pelas  
20 sementes, o que geralmente influencia a capacidade germinativa e o desenvolvimento das  
21 plântulas (Rebouças et al., 1989).

22 Para os resultados de primeira contagem da germinação, observa-se que, com o  
23 aumento do período de permanência na mistura mineral, a porcentagem de plântulas  
24 normais foi significativamente reduzida, este comportamento é similar ao observado por  
25 Torres (2007), que, estudando a germinação de melancia em função da salinidade,  
26 constatou que, para os resultados de primeira contagem da germinação, o aumento do  
27 potencial osmótico no substrato de germinação reduz drasticamente a porcentagem de  
28 plântulas normais. A redução observada no presente estudo foi em torno de 64,2; 40,0;  
29 36,6 e 31,8% para cunhã, estilosantes, soja perene e macrotiloma, respectivamente. Lima et  
30 al. (2005), com arroz, verificaram que com o incremento da salinidade, há reduções  
31 progressivas na porcentagem de germinação, afetando também o desenvolvimento de  
32 plântulas normais. Comparando-se os resultados da primeira contagem com os da  
33 porcentagem final de germinação, verificou-se que os dados de primeira contagem foram  
34 os mais afetados nas espécies cunhã e estilosantes, com o aumento da permanência das

1 sementes na mistura mineral. Este fato já era esperado porque a velocidade de germinação  
2 é o primeiro parâmetro afetado pela redução da disponibilidade de água (Torres, 2007).

3 No entanto, o diferente comportamento entre as espécies pode estar associado à  
4 presença de hilo e micrópila maiores microscopicamente ou mais sensíveis nas espécies  
5 cunhã e estilosantes, talvez, pelo motivo do tegumento do estilosantes não possuir  
6 dormência possa contribuir para esse resultado. Isto porque a testa (tegumento), o hilo e a  
7 micrópila são as principais via de entrada e saída de água nas sementes da maioria das  
8 leguminosas, apesar dessa passagem de água ser lenta (Melhem, 1974).

9 Quanto ao teor de água (TA), as sementes apresentaram redução no seu teor na  
10 medida em que se aumentou o período de permanência na mistura mineral, apresentando  
11 correlação média positiva de 0,59, com a TG, e de 0,67, com o IVE. A redução observada  
12 (entre tempo zero e 96 horas) no presente estudo foi em torno de 79,4; 29,2; 83,2 e 70,4%  
13 para cunhã, estilosantes, soja perene e macrotiloma, respectivamente. No entanto, o  
14 estilosantes foi a espécie que menos perdeu água e manteve seu teor de água, entre 70 e  
15 80% nas primeiras 24 horas, com redução de 24,15%, a partir da qual teve redução  
16 evidentemente acentuada no teor de água, nas outras espécies a redução do teor de água foi  
17 drástica logo nas primeiras 24 horas, ou seja, a cunhã, o macrotiloma e a soja perene  
18 tiveram, respectivamente, redução de 68,2; 57,9 e 59,4%, provavelmente, em função da  
19 maior TA inicial, o que facilita a perda de água nestas sementes.

20 Na medida em que se aumentou a permanência das sementes na mistura mineral, o  
21 IVG diminuiu entretanto, nas primeiras 24 horas, o IVG aumentou para cunhã e manteve-  
22 se estável nas outras três espécies, em relação ao tempo zero. Este comportamento foi  
23 observado por Deminicis et al. (2007) que trabalhando com três das espécies utilizadas  
24 neste estudo (cunhã, soja perene e macrotiloma), submetidas à permanência em cloreto de  
25 sódio, sugerem que superado o estresse salino, e por meio de algum tratamento que supere  
26 a dormência das sementes, como por exemplo a escarificação do tegumento com lixas, as  
27 mesmas germinam o mais rápido possível, desde que o estresse não ultrapasse 24 horas e  
28 que existam condições favoráveis para a germinação. Queiroga et al. (2006), trabalhando  
29 com sementes de melão, verificaram que o tratamento pré-germinativo (estresse salino das  
30 sementes) proporciona benefícios à germinação e maior massa seca da parte aérea das  
31 plântulas; por outro lado, a salinidade da água de irrigação reduz a área foliar e a altura da  
32 plântulas desta espécie. Cavalcante e Perez (1995) constataram que o IVG de leucena foi  
33 inversamente proporcional à concentração de NaCl, na qual as sementes foram submetidas  
34 a estresse.

1           Em relação à condutividade elétrica, nota-se que houve uma tendência de aumento  
2 na quantidade de eletrólitos liberados pelas sementes das quatro espécies estudadas, com o  
3 decorrer do tempo de embebição; fato este relatado por vários autores trabalhando com  
4 soja (Loeffler et al., 1988; Marcos Filho et al., 1990; Dias e Marcos Filho, 1996). Contudo,  
5 estes aumentos são proporcionais ao aumento da permanência sob estresse salino, para  
6 cada espécie, no decorrer do tempo. Desta forma, essa resposta pode ser evidenciada na  
7 observação da correlação média negativa de 0,532, com a TG, e de 0,589, com o IVE. Tal  
8 fato é importante, pois com a diferenciação entre as sementes submetidas aos diferentes  
9 períodos de estresse pôde ser observada, com exceção a cunhã. Com relação ao efeito dos  
10 íons salinos, possivelmente presentes associados ao tegumento das sementes, por conta do  
11 estresse salino ao qual foram submetidas, procurou-se eliminar ao máximo quando da  
12 lavagem com água destilada. Além disso, o tamanho da semente pode certamente afetar na  
13 avaliação da condutividade, pois a cunhã tem sementes de três a cinco vezes maiores que  
14 as das outras espécies estudadas. De forma geral, o uso de sementes de diferentes tamanhos  
15 afetou os valores da condutividade elétrica. Tao (1978) explicou que este fenômeno pode  
16 ocorrer em função da alta relação entre a superfície por unidade de peso, nas sementes  
17 pequenas. Prete (1992) encontrou valores elevados de condutividade elétrica para os  
18 menores grãos de café, que segundo este autor, pode estar associado a um estágio mais  
19 avançado de deterioração destas ou a um maior grau de imaturidade nesta classe de  
20 tamanho. Vale destacar a recomendação que os resultados da condutividade elétrica  
21 expressos com base de peso das sementes minimiza o efeito do tamanho nos resultados da  
22 condutividade elétrica. Entretanto, apesar de reduzir tal efeito, essa metodologia não  
23 elimina completamente o problema (Vieira, 1994). Assim, os resultados obtidos levam a  
24 sugerir que deve-se ter cautela na interpretação dos valores de condutividade elétrica para  
25 sementes de cunhã, estilosantes, soja perene e macrotiloma, onde o número de sementes ou  
26 a temperatura de embebição forem diferentes, principalmente após estresse salino pré-  
27 germinativo.

28           Examinando-se os resultados do teste de envelhecimento acelerado conduzido durante o  
29 período de 48 horas à 41°C, observa-se que os valores da porcentagem de germinação, para  
30 todas as espécies, decresceram à medida que se aumentou o período de permanência na  
31 mistura mineral, apresentando correlação média positiva de 0,92, com a TG e de 0,94, com  
32 o IVE, e acompanhando as informações obtidas nos testes de germinação e primeira  
33 contagem de germinação (1°TG). Assim, as sementes que não foram submetidas ao  
34 estresse salino em mistura mineral para bovinos apresentaram-se como as de mais alta

1 qualidade e as sementes submetidas à 96 horas de estresse como as de qualidade mais  
2 baixa, enquanto as sementes submetidas até 24 horas, de qualidade similar entre as  
3 sementes submetidas a 12 horas de estresse salino e às sementes que não foram submetidas  
4 ao estresse salino. Este resultado assegura as vantagens em determinar a qualidade de  
5 sementes pelo teste de envelhecimento acelerado. Mas, de modo geral, segundo Marcos  
6 Filho (1999), como é verificado para outros testes, é difícil a identificação de diferenças  
7 entre sementes de vigor intermediário, fato também constatado por Ávila et al. (2006).

8  
9

## 10 **CONCLUSÕES**

11

12 O estresse salino, até 24 horas, não apresenta risco para a germinação das sementes,  
13 podendo ser recomendada a introdução de sementes na mistura mineral para bovinos, para  
14 a introdução de leguminosas na pastagem.

15  
16

## 17 **AGRADECIMENTOS**

18

19 UENF - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

20 FAPERJ - Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de  
21 Janeiro.

22 CNPq – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

23 CAPES - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

24 UFRRJ - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

25 UFC - Universidade Federal do Ceará.

26 EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

27 PESAGRO-RIO - Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro

28 UNIOESTE – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

29  
30  
31  
32  
33

## REFERÊNCIAS

- 1
- 2
- 3 ALLAKHVERDIEV, S.I.; SAKAMOTO, A.; NISHIYAMA, Y.; INABA, M.; MURATA,  
4 N. Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of photosystems I and II in  
5 *Synechococcus* sp. **Plant Physiology**, v.123, p.1047–1056, 2000.
- 6
- 7 ÁVILA, P.F.V.; VILLELA, F. A.; ÁVILA, M.V. Teste de envelhecimento acelerado para  
8 avaliação do potencial fisiológico de sementes de rabanete. **Revista Brasileira de**  
9 **Sementes**, v.28, n.3, p.52-58, 2006.
- 10
- 11 BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília:  
12 SNAD/DNDV/CLAV, 1992. 365p.
- 13
- 14 CAMPOS, I.S.; ASSUNÇÃO, M.V. Efeito do cloreto de sódio na germinação e vigor de  
15 plântulas de arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.25, n.6, p.837-843,  
16 1990.
- 17
- 18 CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed.  
19 Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.
- 20
- 21 CAVALCANTE, A.M.B.; PEREZ, S.C.J.G.A. Efeitos dos estresses hídrico e salino sobre  
22 a germinação de sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. **Pesquisa**  
23 **Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.30, p.281-289, 1995.
- 24
- 25 DEMINICIS, B.B.; ALMEIDA, J.C.C.; ARAÚJO, S.A.C.; BLUME, M.C.; VIEIRA, H.D.;  
26 DOBBSS, L.B. Sementes de leguminosas submetidas a diferentes períodos de estresse  
27 salino. **Archivos de Zootecnia**, v.56, n.215, p.347-350, 2007.
- 28
- 29 DIAS, D.C.F.S.; MARCOS FILHO, J. Teste de condutividade elétrica para avaliação do  
30 vigor de sementes de soja. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.53, n.1, p.31- 42, 1996.
- 31

- 1 EHRET, D.L.; PLANT, A.L. Salt tolerance in crop plants. (Chapter 5). Pp: 69–120. In:  
2 DHALIWAL, G.S.; ARORA, R. (eds.). **Environmental Stress in Crop Plants**.  
3 Commonwealth Publishers, New Delhi, India. 1999. 331p.  
4
- 5 GARCIA, D.C.; MENEZES, N.L. Teste de envelhecimento precoce para sementes de  
6 azevém, aveia preta e milho. **Ciência Rural**, v.29, n.2, p.233-237, 1999.  
7
- 8 LIMA, M.G.S.; LOPES, N.F.; MORAES, D.M.; ABREU, C.M. Qualidade fisiológica de  
9 sementes de arroz submetidas a estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas,  
10 v.27, n.1, p.54-61, 2005.
- 11 LOEFFLER, T.M.; TEKRONY, D.M.; EGLI, B.D. The bulk conductivity test as an  
12 indicator of soybean seed quality. **Journal of Seed Technology**, Springfield, v. 12, p. 37-  
13 53, 1988.  
14
- 15 LOPES, J.C.; MACEDO, C.M.P. Germinação de sementes de couve chinesa sob influência  
16 do teor de água, substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília,  
17 v.30, n.3, p.79-85, 2008.  
18
- 19 MAAS, E.V.; HOFFMAN, G.J. Crop salt tolerance: current assessment. **Journal of**  
20 **Irrigation and Drainage Division**, New York, v.103, n.2, p.115-134, 1997.
- 21 MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.;  
22 VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**.  
23 Londrina: ABRATES, 1999. p.3.1-3.24.
- 24 MARCOS FILHO, J.; SILVA, W. R.; NOVENBRE, A.D.L.C.; CHAMA, H.C.P.C.  
25 Estudo comparativo de métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de  
26 soja, com ênfase ao teste de condutividade elétrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**,  
27 Brasília, v.25, p.1805-1815, 1990.  
28
- 29 MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling  
30 emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177, 1962.  
31

- 1 MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das**  
2 **sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.  
3
- 4 MELHEM, T.S. Entrada de água na semente de *Dipteryx alata* Vog. (Leguminosae-  
5 Lotoideae). **Hoehnea**, São Paulo, v.4, p.33-48, 1974.  
6
- 7 MUNNS, R. Genes and salt-tolerance: bringing them together. **New Phytologist**, v.3,  
8 p.645–663, 2005.  
9
- 10 PRETE, C.E.C. **Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café (*Coffea arabica***  
11 **L.) e sua relação com a qualidade da bebida**. 1992. 125 f. Tese (Doutorado em  
12 Agronomia/ Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade  
13 de São Paulo, Piracicaba, 1992.  
14
- 15 PRISCO, J.T.; O’LEARY, J.W. Osmotic and toxic effects of salinity on germination of  
16 *Phaseolus vulgaris* L. seeds. **Turrialba**, San José, v.20, p.177-184, 1970.  
17
- 18 QUEIROGA, R.C.; ANDRADE NETO, R.C.; NUNES, G.H.S.; MEDEIROS, J.F.,  
19 ARAÚJO, W.B.M. Germinação e crescimento inicial de híbridos de meloeiro em função  
20 da salinidade. **Horticultura Brasileira**, Campinas, v.24, n.3, p. 315-319, 2006.  
21
- 22 REBOUÇAS, M.A.; FAÇANHA, J.G.V.; FERREIRA, L.G.R.; PRISCO, J.T. Crescimento  
23 e conteúdo de N, P, K e Na em três cultivares de algodão sob condições de estresse salino.  
24 **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.1, n.1, p.79-85, 1989.  
25
- 26 REZENDE, A.V.; VILELA, H.H.; PEREIRA, R.S.A.; NOGUEIRA, D.A.; LANDGRAF,  
27 P.R.C.; VIEIRA, P.F. Germinação de sementes de *Stylosanthes* misturadas ao sal para  
28 bovinos. In: Congresso de Forragicultura e Pastagens, 2., 2007, Lavras. **Anais...** NEFOR,  
29 Lavras, 2007. CD-ROM.  
30
- 31 RIBEIRO, R.C.; ROSSIELLO, R.P.; MACEDO, R.O.; BARBIERI JR, E.B. Introdução de  
32 desmódio em pastagem estabelecida de *Brachiaria humidicola*: densidade e frequência da  
33 leguminosa no consórcio. **Revista Universiade Rural**, Série Ciências da Vida, Seropédica,  
34 v.27, n.2, p.41-49, 2007.

- 1  
2 **SILVA, T.O. Dispersão, germinação e persistência de leguminosas forrageiras**  
3 **tropicais através das fezes de bovinos.** Seropédica: UFRRJ, 2008. 46 p. Dissertação  
4 (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2008.  
5  
6 **SILVA, M.J., SOUZA, J.G., BARREIRO NETO M. e SILVA, J.V.** Seleção de três  
7 cultivares de algodoeiro para a tolerância à germinação em condições salinas. **Pesquisa**  
8 **Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.27, n.4, p.655-659, 1992.  
9  
10 **TAO, J.K.** Factors causing variations in the conductivity test for soybean seeds. **Journal of**  
11 **Seed Technology**, Springfield, v.3, n.1, p.10-18, 1978.  
12  
13 **TAMBELINE, M.; PEREZ, S.C.J.G.** Efeito do estresse hídrico simulado com PEG (6000)  
14 ou manitol na germinação de sementes de barbatimão (*Stryphnodendron polyphyllum*  
15 *Mart.*) **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.1, 226-232, 1998.  
16  
17 **TeKRONY, D.M.** Accelerated aging. In: **VAN DE VENTER, H.A. (Ed.). Seed vigour**  
18 **testing seminar.** Copenhagen: ISTA, 1995. p.53-72.  
19  
20 **TONIN, F.** Fabácea, a “praga” que salvou rebanho *leiteiro*. **DBO Mundo do Leite:**  
21 **Revista do Mercado Lácteo**, São Paulo, v.11, p.18-21, 2004.  
22  
23 **TORRES, S.B.** Germinação e desenvolvimento de Plântulas de melancia em função da  
24 salinidade. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.29, n.3, p.77-82, 2007.  
25  
26 **TORRES, S.B.; NEGREIROS, M.Z.** Envelhecimento acelerado em sementes de berinjela.  
27 **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.30, n.2, p.209-213, 2008.  
28  
29 **TORRES, S.B. Métodos para avaliação do potencial fisiológico de sementes de melão.**  
30 2002. 103f. Tese (Doutorado em Fitotecnia)- Escola Superior de Agricultura Luiz de  
31 Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.  
32

- 1 VALENTIM, J.F.; CARNEIRO, J.C. **Quebra da dormência e plantio de puerária em**  
2 **sistemas de produção agropecuários e agroflorestais.** Rio Branco: Embrapa-CPAF-  
3 Acre, (Instruções Técnicas Nº 17), 1998.  
4
- 5 VALETIM, J.F.; ANDRADE, C.M.S; FEITOZA, J.E.; SALES, M.G.; VAZ, F.A.  
6 **Métodos de introdução do amendoim forrageiro em pastagens já estabelecidas no**  
7 **acre.** Rio Branco: Embrapa-CPAF-Acre, (Boletim técnico Nº152), 2002.  
8
- 9 VIEIRA. R.D. Teste de condutividade elétrica. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N.M.  
10 (Ed.) **Testes de vigor em sementes.** Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.103-132.  
11
- 12 VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (1994). **Testes de vigor em sementes.** Jaboticabal:  
13 FUNEP, 164p.  
14
- 15 VIEIRA, R.D., KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. In:  
16 KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de**  
17 **sementes: conceitos e testes.** Londrina: ABRATES, 1999. cap.4, p.4.1-4.26.  
18
- 19 WANG, Y.; NIL, N. Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase-  
20 oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus*  
21 *tricolor* leaves during salt stress. **The Journal of Horticultural Science and**  
22 **Biotechnology**, Weellesbourne, v.75, p.623–627, 2000.  
23
- 24 ZHU, J.K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Review of Plant**  
25 **Biology**, Palo Alto, v.53, p. 247–273, 2002.  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

1 **Tabela 1. Porcentagem de germinação (TG), índice de velocidade de germinação**  
 2 **(IVG), teor de água (TA), primeira contagem da germinação (1ª TG), condutividade**  
 3 **elétrica (CE) e envelhecimento acelerado (EA) de sementes de cunhã, estilosantes,**  
 4 **soja perene e macrotiloma submetidas a diferentes períodos de estresse salino em**  
 5 **mistura mineral para bovinos.**

6

Espécie\ horas	TG (%)							CV%
	0	12	24	36	48	72	96	
cunhã	87,00 ab	96,00 a	91,00 a	85,00 ab	72,00 ab	53,00 b	53,00 b	4,52
estilosantes	88,00 a	81,50 ab	66,00 ab	61,00 ab	61,00 ab	55,00 ab	48,00 b	9,77
soja perene	61,50 a	56,00 a	51,50 a	56,00 a	51,00 a	34,50 a	31,00 a	6,21
macrotiloma	64,50 a	67,50 a	65,00 a	66,00 a	67,00 a	56,00 a	57,00 a	6,26
Espécie\ horas	IVG							CV%
	0	12	24	36	48	72	96	
cunhã	10,55 ab	11,44 a	10,83 a	9,86 ab	8,18 ab	5,86 b	5,89 b	3,79
estilosantes	5,37 a	4,99 a	4,10 a	3,14 a	3,79 a	3,44 a	3,00 a	9,51
soja perene	5,98 a	5,40 a	4,88 a	5,44 a	4,98 a	3,27 a	3,13 a	6,17
macrotiloma	7,15 a	7,44 a	6,83 a	6,63 a	6,90 a	5,73 a	5,96 a	6,03
Espécie\ horas	TA (%)							CV%
	0	12	24	36	48	72	96	
cunhã	22,73 a	16,66 ab	7,22 bc	6,63 bc	5,84 bc	6,06 bc	4,69 c	9,07
estilosantes	12,33 a	9,66 a	9,35 a	9,04 a	8,91 a	8,88 a	8,72 a	2,38
soja perene	25,97 a	13,14 ab	10,94 b	9,18 b	4,16 b	4,27 b	4,37 b	7,43
macrotiloma	27,76 a	20,73 ab	11,27 b	10,38 b	10,11 b	8,49 b	8,22 b	9,07
Espécie\ horas	1ª TG (%)							CV%
	0	12	24	36	48	72	96	
cunhã	81,00 a	77,00 ab	69,00 b	57,00 b	44,00 bc	27,00 c	29,00 c	8,79
estilosantes	80,00 a	73,50 a	64,00 b	47,00 c	59,00 c	55,00 c	48,00 c	9,05
soja perene	20,50 a	17,50 a	14,00 a	18,50 a	17,50 a	9,50 a	13,00 a	20,46
macrotiloma	42,50 a	43,50 a	34,00 a	27,00 b	31,50 b	25,50 b	29,00 b	13,44
Espécie\ horas	CE (µS/cm/g)							CV%
	0	12	24	36	48	72	96	
cunhã	15,97 a	17,51 a	18,04 a	23,76 a	23,98 a	23,84 a	34,62 a	7,42
estilosantes	234,33 b	228,20 b	244,30 b	226,80 b	223,30 b	300,13 a	334,43 a	9,07
soja perene	238,00 b	272,89 b	414,81 ab	417,20 ab	581,46 ab	582,65 ab	736,54 a	11,66
macrotiloma	191,96 b	375,13 a	398,37 a	394,45 a	397,95 a	402,99 a	385,63 a	3,31
Espécie\ horas	EA (%)							CV%
	0	12	24	36	48	72	96	
cunhã	85,77 a	94,67 a	84,47 a	71,74 ab	50,10 ab	21,98 b	15,91 b	7,91
estilosantes	86,78 a	79,93 ab	56,90 ab	28,25 b	37,88 b	28,48 b	23,16 b	19,61
soja perene	59,76 a	53,69 ab	39,95 b	36,10 b	23,80 bc	7,94 c	6,93 c	13,33
macrotiloma	62,80 a	65,56 a	55,60 a	48,47 a	45,84 a	29,25 b	35,71 b	12,76

7 \*Médias seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de  
 8 probabilidade.

9

10

11

1     **SEMENTES DE LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS SUBMETIDAS À**  
2     **MASTIGAÇÃO SIMULADA E À DIGESTÃO ÁCIDO-ENZIMÁTICA *in vitro***

3

4

5

6     **Resumo:** Este trabalho teve por objetivo verificar o efeito da mastigação simulada em  
7     laboratório, com uma barra metálica, sobre a sobrevivência de sementes e a sobrevivência  
8     de sementes de quatro leguminosas forrageiras tropicais submetidas a diferentes períodos  
9     de digestão ácido-enzimática “*in vitro*”. As espécies utilizadas foram: cunhã, estilosantes,  
10    macrotiloma e soja perene. Para isso, foram conduzidos três ensaios, sendo dois ensaios  
11    subseqüentes, para avaliação da mastigação, e um ensaio de digestão ácido-enzimática. O  
12    primeiro foi realizado para observar o percentual de sementes destruídas pela “mastigação”  
13    e o segundo foi para comparar o comportamento germinativo das sementes das espécies  
14    utilizadas após “mastigação”, escarificação com lixa, “mastigação” com posterior  
15    escarificação com lixa e sementes integras (controle). No terceiro ensaio as sementes  
16    foram incubadas a 39° C com ácido clorídrico mais pepsina por: 0, 2, 4, 8, 12 e 24 horas.  
17    Os resultados permitem observar que as sementes de leguminosas, por possuírem  
18    tegumentos duros e impermeáveis, quando submetidas à mastigação e à digestão ácido-  
19    enzimática, possuem alto potencial de resistência, e, desta forma, maiores são suas chances  
20    de passar intactas pelo trato digestório dos bovinos, sendo capazes de germinar quando  
21    defecadas nas pastagens. Contudo, o estilosantes não deve ser inserido na alimentação de  
22    bovinos com este fim, pois não resiste à digestão ácido-enzimática.

23

24

25    Termos para indexação: Germinação, mastigação, ácido clorídrico e pepsina.

26

27

28

29

30

31

32

33

1     **SURVIVAL OF SEEDS OF TROPICAL FORAGES LEGUMES SUBMITTED TO**  
2           **SIMULATED MASTICATION AND TO ACID-ENZYMATIC DIGESTION**

3

4

5

6     **Abstract:** This experiment was designed to evaluate the effects of four tropical forages  
7 legumes seeds submitted to the simulated mastication in laboratory, with a metallic bar and  
8 the the survival to different periods of acid-enzymatic digestion “in vitro ”. The species  
9 studied were butterfly pea, stylosanthes, archer and perennial soybean. For that, three  
10 rehearsals, two subsequent rehearsals were led. The first was accomplished to observe the  
11 percentage of destroyed seeds by the “mastication” and the second was to compare the  
12 germination behavior of the seeds submitted to treatments: intact seeds, simulated  
13 mastication, scarification with sandpaper, mastication with subsequent scarification with  
14 sandpaper. In third experiment the seeds were incubated at 39°C with hydrochloric acid  
15 and pepsin for: 0, 2, 4, 8, 12 and 24 hours. The results showed that the legume seeds, by  
16 having hard and impermeable teguments, when submitted mastication and to acid-  
17 enzymatic digestion have a high resistance potential, therefore, larger are the chances to  
18 pass intact through the gastrointestinal tract of bovine and when defecated in the pastures  
19 lands are able to germinate. However, it’s not recommended to use the stylosanthes in the  
20 bovine feeding with this purpose, because it doesn't resist to the acid-enzymatic digestion.

21

22

23     Index terms: germination, mastication, hydrochloric acid and pepsin.

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

## INTRODUÇÃO

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

As leguminosas constituem o segundo mais importante grupo de plantas forrageiras. A família Leguminosae é caracterizada por apresentar plantas dicotilidôneas, por produzir sementes em vagens e pela capacidade de fixar nitrogênio em simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium*. As leguminosas forrageiras são conhecidas pela alta qualidade e capacidade de produção, e também são conhecidas pela capacidade de manter a qualidade nutritiva por período de tempo superior às gramíneas (Pereira et al., 2001). Contudo, a adoção de leguminosas em pastagens no Brasil ainda é tímida, mas existe atualmente um crescente interesse da iniciativa privada pelas leguminosas.

O estudo da avaliação de leguminosas forrageiras com a finalidade de aproveitá-las em pastagens já foi realizado por diversos pesquisadores e exige o conhecimento das espécies e cultivares que serão utilizadas como forrageiras numa determinada região. Porém, um dos maiores problemas encontrados é a fase de estabelecimento.

Segundo Valentim e Carneiro (1998) e Tonin (2004), a forma mais barata de introduzir leguminosas em pastagens é utilizar as vacas como “plantadeiras”, ou seja, o produtor introduz sementes na dieta das vacas ou no sal mineral para bovinos, para que ocorra quebra da dormência, e os próprios animais fazem a disseminação. Apesar de vários estudos terem sido realizados para avaliar várias formas de introdução de leguminosas em pastagem (Valentim et al., 2002; Ribeiro et al., 2007), poucos são os trabalhos que buscam o desenvolvimento da técnica de dispersão de sementes, por meio da introdução de sementes em concentrado ou mistura mineral para bovinos, caprinos, ovinos e/ou equinos (Deminicis et al., 2007, Rezende et al. 2007 e Silva 2008). Atualmente muitos produtores estão tentando consorciar suas pastagens com o estilosantes por meio da mistura destas sementes no sal fornecido ao rebanho, pois acreditam que ao ingerir o sal no cocho, os animais ingerem as sementes e estas encontram ambiente propício para germinação quando são excretadas (Rezende et al., 2007). Inúmeros pesquisadores avaliaram e continuam avaliando em laboratório o que acontece com os alimentos no trato digestório de ruminantes, no entanto, poucos se preocuparam em avaliar os danos sofridos pelas sementes introduzidas na alimentação de ruminantes, para a dispersão de espécies forrageiras, no intuito de melhorar ou recuperar as pastagens.

Desta forma, danos causados pela ingestão, mastigação e ruminação são pouco conhecidos. Simplesmente, porque o movimento da mandíbula para incisão, trituração e pulverização dos alimentos, assim como das sementes ingeridas, é difícil de quantificar,

1 porque depende de indivíduo, de parâmetros nutricionais dos alimentos, da estrutura do  
2 alimento ou semente, além disso existe grande dificuldade em se obter o material para  
3 análise logo após mastigação, sem considerar a ruminação. No trato digestório ocorre o  
4 processo anaeróbico por bactérias proteolíticas e celulolíticas e o processo enzimático  
5 ligado ao abomaso e intestino grosso, no qual as sementes são banhadas em ácido (pH 2-5)  
6 e enzimas proteolíticas, amilolíticas e lipolíticas. Apesar dessas informações certamente  
7 serem úteis, elas não são conclusivas, pois a sobrevivência de sementes de várias espécies,  
8 após passagem pelo trato digestório dos ruminantes, é pouco conhecida. Desta forma, este  
9 trabalho pretendeu analisar a mastigação simulada e a digestão ácido-enzimática de  
10 sementes de quatro leguminosas tropicais.

11

12

13

## MATERIAL E MÉTODOS

14

### *Mastigação simulada*

15

16

17 Este trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitotecnia da UENF, em Campos dos  
18 Goytacazes - RJ, entre os meses de outubro e novembro de 2007. As espécies utilizadas  
19 foram: *Clitoria ternatea*, *Stylosanthes* spp. cv. Campo Grande, *Neonotonia wightii* e  
20 *Macrotyloma axillare*. Primeiramente foi conduzido um ensaio para observar o percentual  
21 de sementes destruídas pela mastigação por bovinos, com delineamento experimental  
22 inteiramente casualizado, 4 leguminosas com 6 repetições. Para simular a mastigação foi  
23 escolhido o método descrito por Bonn (2004), onde é possível avaliar a sensibilidade das  
24 sementes à tensão mecânica. Para isso foi utilizada uma barra de ferro com uma área de  
25 contato de 2 cm<sup>2</sup> e comprimento de 1,3 m, uma pessoa com peso de aproximadamente 70  
26 kg manteve a barra a 90° com o solo, girando à 90° lateralmente e tencionando-a para  
27 baixo. A base fixa onde as sementes foram colocadas foi construída com uma estilha de  
28 madeira, um recipiente plástico, duas camadas de fita de borracha e um prego com cabeça  
29 (2cm<sup>2</sup>), para simular o contato das sementes com a gengiva e os dentes. Para simular  
30 algum tipo de alimento, foram adicionados, ao recipiente plástico, aproximadamente 3  
31 gramas de *Paspalum notatum* picado à 2,5 cm (Figura 1).

32

33

34

A área de mastigação foi ajustada exatamente dentro do recipiente plástico que foi anexado ao pedaço de madeira “representando” a mandíbula. As sementes foram colocadas (10 g) no recipiente em uma única camada cobrindo a área de contato com as borrachas e a

1 cabeça do prego e sobre elas, as 3g de *Paspalum notatum*, sendo então as sementes  
2 “mastigadas” três vezes (3 rotações a 90° e pressão para baixo). Todas as sementes  
3 contidas nos 10 gramas utilizados foram previamente contadas e, após “mastigação”,  
4 foram separadas, contadas e pesadas. Permitindo que se chegasse ao valor percentual de  
5 sementes que não foram destruídas pela “mastigação”.

6 Outro ensaio foi conduzido em delineamento experimental inteiramente  
7 casualizado, em esquema fatorial 4x4 (4 leguminosas, 4 tratamentos), com seis repetições.  
8 Os tratamentos foram os seguintes: A) sementes intactas; B) escarificadas com lixa d’água  
9 nº100; C) “mastigadas” e D) “mastigadas” e escarificadas.

10 A justificativa deste ensaio foi observar e comparar o comportamento germinativo  
11 das espécies utilizadas após “mastigação”, escarificação com lixa para quebra de  
12 dormência do tegumento, “mastigação” com posterior escarificação com lixa e sem  
13 nenhum tratamento (controle, ou seja, intactas). Para a confecção do tratamento controle,  
14 foram escolhidas 50 sementes intactas, ou seja, sementes que não passaram por nenhum  
15 tratamento experimental. Para o tratamento sementes escarificadas foram selecionadas 60  
16 sementes intactas, sendo que, após escarificação com a lixa, foram escolhidas 50 sementes  
17 por repetição para realização do teste de germinação. Para o tratamento mastigação, foi  
18 realizada a simulação da mastigação com posterior seleção de 50 sementes não destruídas,  
19 por repetição, para o teste de germinação. Para o tratamento mastigação com posterior  
20 escarificação, foi realizada a simulação da mastigação e seleção de 60 sementes não  
21 destruídas, sendo que estas foram escarificadas e selecionadas 50 sementes por repetição  
22 para realização do teste de germinação.

23 O teste de germinação foi realizado, de acordo com Brasil (1992), em câmara de  
24 germinação do tipo BOD a 25°C, com 12 horas de luz, onde as sementes foram colocadas  
25 para germinar em rolo de papel germiteste autoclavado (120°C/20 minutos) e umedecidos  
26 com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. A avaliação do teste de  
27 germinação (plântulas normais) foi realizada no 10º dia após a montagem do teste. A  
28 classificação das plântulas como normais ou anormais foi realizada de acordo com Brasil  
29 (1992), considerando normais as plântulas com todas as estruturas essenciais em perfeito  
30 desenvolvimento. Ao final dos dois ensaios, pode-se chegar à porcentagem de  
31 sobrevivência das sementes pela fórmula: Porcentagem de sementes que não foram  
32 destruídas pela “mastigação” x Porcentagem de germinação das sementes “mastigadas” e  
33 escarificadas x 10<sup>-1</sup>. Os resultados da germinação foram expressos em porcentagem, sendo  
34 submetidos a análise da variância, utilizando o teste de Tukey, a 5% de significância para a

1 comparação das médias. Todos os valores foram transformados, para fins de análise de  
2 variância, em  $\arcsen\sqrt{x/100}$ .

3

#### 4 ***Digestão ácido-enzimática in vitro***

5

6 Segundo Hungate (1966), a digestibilidade *in vivo* pode ser predita em  
7 procedimentos *in vitro* que recriam as condições do rúmen e do abomaso. Por este motivo,  
8 foi desenvolvido o ensaio de digestibilidade gravimétrico de dois estágios, sendo que a  
9 primeira fase deste método trata de recriar as condições do rúmen e a segunda etapa trata  
10 de recriar as condições do abomaso (Vélasquez, 2006). A segunda fase deste método é que  
11 trataremos de estudar no presente ensaio.

12 O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema  
13 fatorial 4x6 (4 leguminosas, 6 tratamentos), com quatro repetições. Foi realizado a adição  
14 de cerca de 40 mL de HCl a 6 N e 8 g de pepsina (Sigma EC 3.4.23.1) em cada erlenmeyer  
15 de 250 mL, mantendo-se a 39°C. A pepsina foi previamente dissolvida em 34 mL de H<sub>2</sub>O,  
16 destilada a 35°C durante cinco minutos em agitador, mantendo-se o pH da solução entre  
17 2,0 a 3,5 (HOLDEN, 1999). Em cada erlenmeyer, foram acondicionadas 50 sementes de  
18 somente uma espécie, totalizando o uso de 96 erlenmeyeres, nas quais as sementes  
19 permaneceram por: A) 0; B) 2; C) 4; D) 8; E) 12 e E) 24 horas. O CO<sub>2</sub> foi inoculado por  
20 cerca de 30 segundos, antes e após a adição das sementes. Ao término dos períodos de  
21 incubação, os jarros foram drenados e as sementes lavadas no próprio jarro, cinco a seis  
22 vezes com água destilada. Sequencialmente as sementes foram levadas para a realização do  
23 teste de germinação. O teste de germinação foi realizado em câmara de germinação do tipo  
24 BOD a 25°C, sob luz branca por 12 horas, utilizando-se quatro repetições de 50 sementes  
25 por repetição, colocadas para germinar em rolo de papel germiteste umedecidos com água  
26 destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. A avaliação do teste de germinação  
27 (plântulas normais) foi realizada no 10º dia após a montagem do teste. Os resultados  
28 obtidos no teste de germinação foram transformados em  $\arcsen\sqrt{x/100}$  e submetidos à  
29 análise de variância e regressão utilizando o programa Sisvar (Ferreira, 2000).

30

31

32

33

34

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Mastigação simulada*

Os resultados obtidos neste trabalho encontram-se na Tabela 1. No primeiro ensaio, a análise da variância mostrou efeito significativo ( $P < 0,05$ ) para espécies quanto à porcentagem de sementes não destruídas. O percentual de sementes destruídas foi maior nas espécies cunhã e estilosantes. A espécie macrotiloma e a soja perene apresentaram menores valores de sementes destruídas, ou seja, maior número de sementes não destruídas, mas não diferiram significativamente entre si.

No segundo ensaio, a análise da variância mostrou efeitos significativos ( $P < 0,05$ ) para os tratamentos sobre o percentual de germinação das sementes das quatro espécies estudadas. Sendo que, para todas as espécies, o maior percentual foi obtido no tratamento com escarificação com lixa. Porém, para macrotiloma e cunhã a porcentagem de germinação das sementes “mastigadas” e escarificadas não diferiu significativamente da porcentagem obtida no tratamento escarificação. Para o estilosantes, o percentual de germinação obtido nos tratamentos escarificação e controle não diferiram significativamente, mas a porcentagem de sementes germinadas foi maior no tratamento escarificação. Estes resultados sugerem que o estilosantes possui pequeno número de sementes duras em relação aos demais, não necessitando, portanto, de tratamento para a superação da dormência de suas sementes. Entretanto, Carmona et al. (1986) sugerem que a escarificação de sementes de estilosantes (*S. macrocephala* e *S. capitata*) com lixa, até a perda de brilho do tegumento, seja utilizada para esse fim. Deminicis et al. (2006) aconselham que este tratamento seja utilizado para a superação da dormência de sementes de cunhã, macrotiloma e soja perene, pois apresenta melhores resultados para porcentagem média de germinação e para índice médio de velocidade de emergência.

Em geral os resultados deste estudo mostraram que as sementes de cunhã, macrotiloma e soja perene apresentam tegumentos altamente resistentes à tensão mecânica. Além disso, mostraram que a mastigação promove rompimento do tegumento de parte das sementes das espécies estudadas, podendo levar as mesmas a germinar ou a morrer, pois os danos decorrentes do processo, no eixo embrionário são letais, mesmo que sua dormência seja superada. Apesar de um percentual de sementes ter sido destruído e outro percentual não ter germinado, por motivo não identificado, o percentual de sobrevivência das sementes, foi considerado alto, sendo a cunhã a espécie que se destacou neste processo de

1 resistência (70%). Bonn (2004) observou que a tensão mecânica proporcionada pela  
2 “mastigação simulada” apresenta resultados variáveis entre as 14 espécies, excluindo *Lotus*  
3 *corniculatus* e *Poa angustifolia*, todas as outras espécies estudadas por ela apresentaram  
4 redução na viabilidade de suas sementes após “mastigação simulada”, entretanto não muito  
5 elevada.

6

### 7 ***Digestão ácido-enzimática in vitro***

8

9 Foram obtidas, por meio de análise de regressão, as equações que descrevem o  
10 comportamento da porcentagem de germinação (PG%) e porcentagem de dureza (D%) das  
11 sementes submetidas a diferentes períodos de permanência em ácido clorídrico mais  
12 pepsina, Figura 2 e 3.

13 Quanto à porcentagem de germinação, as sementes apresentaram pequeno  
14 acréscimo à medida que se aumentou o período de permanência no ácido clorídrico mais  
15 pepsina. No entanto, o estilosantes apresentou comportamento contrário às demais,  
16 reduzindo o número de sementes germinadas, justamente por conta do número de sementes  
17 mortas observadas no teste de germinação. Este comportamento pode ser justificado pelo  
18 fato de que o estilosantes possui tegumento pouco resistente, haja visto que a  
19 recomendação para superação de sua dormência requer imersão em ácido sulfúrico  
20 concentrado durante, no máximo, 10 minutos (Seiffert, 1982). O comportamento da  
21 porcentagem de sementes duras em todas as espécies foi semelhante (Figura 2), ou seja,  
22 houve redução do número de sementes duras a medida que aumentou o tempo de  
23 permanência no ácido mais pepsina, embora o estilosantes tenha apresentado acentuada  
24 redução logo nas primeiras horas. Contudo, as espécies macrotiloma, cunhã e soja perene  
25 apresentaram alta resistência e sobrevivência de suas sementes, justamente pela dureza do  
26 tegumento das mesmas. Este comportamento sugere que a escarificação ácido-enzimática  
27 das sementes tenha provocado pequeno efeito sobre a permeabilidade do tegumento das  
28 sementes, pelo menos em três das espécies estudadas. É que as sementes de estilosantes  
29 sofrem danos letais quando submetidas à digestão ácido-enzimática, independente do  
30 período de permanência.

31 A literatura relaciona diversas técnicas para superar a impermeabilidade do  
32 tegumento, entre as quais se destacam a escarificação ácida, que ocasiona o desgaste do  
33 tegumento, promovendo a permeabilidade da semente. Apesar disto, Alves et al. (2007)  
34 observaram que a escarificação ácida interfere drasticamente na germinação de sementes

1 de *Schinopsis brasiliense*, porque além de superar a dormência de seu tegumento, causa a  
2 morte de quase todas as sementes submetidas à este tratamento.

3 Com base nestes resultados, poderiam ser avaliados tempos de imersão mais  
4 prolongados na solução ácida, para verificar se há aumento significativo da germinação das  
5 sementes. Contudo, fica claro que se as sementes sobreviverem à degradação ruminal e à  
6 “digestão ácido-enzimática, permanecendo dormentes, poderão germinar nas fezes de  
7 bovinos, quando as mesmas forem introduzidas na dieta destes animais.

8  
9

## 10 **CONCLUSÕES**

11

12 A mastigação simulada de sementes em laboratório, com uma barra metálica,  
13 permite observar que as sementes das leguminosas testadas, por possuírem tegumentos  
14 duros e impermeáveis, quando submetidas à mastigação por bovinos, possuem maior  
15 potencial de resistência e, desta forma, maiores são suas chances de passar pelo trato  
16 digestório dos bovinos, sendo capazes de germinar quando defecadas nas pastagens.

17 A digestão ácido-enzimática apresenta baixo risco às sementes de cunhã, soja  
18 perene e macrotiloma.

19 O estilosantes não deve ser inserido na alimentação de bovinos com o fim de  
20 introduzi-lo nas pastagens, justamente por ser sensível a etapa de digestão ácido-  
21 enzimática que ocorre no abomaso dos bovinos.

22 Novos estudos devem ser realizados para permitir maior clareza dos resultados e  
23 para verificar a possibilidade do uso da introdução de leguminosas por bovinos em  
24 pastagens.

25  
26

## 27 **AGRADECIMENTOS**

28

29 UENF - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

30 FAPERJ - Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de  
31 Janeiro.

32 CNPq – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

33 CAPES - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

34 UFRRJ - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.



- 1 FERREIRA, D.F. **Sistema de análises de variância para dados balanceados**. Lavras:  
2 UFPA, 2000. (SISVAR 4. 1. pacote computacional).  
3
- 4 HOLDEN, L.A. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for tem feeds.  
5 **Journal Dairy Science**, Savoy, v. 82, p. 171794, 1999.  
6
- 7 HUNGATE, R. E. **The rumen and its microbes**. New York: Academic Press, 1966. 533  
8 p.  
9
- 10 PEREIRA, A.V.; VALLE, C.B.; FERREIRA, R.P.; MILES, J.W. Melhoramento de  
11 forrageiras tropicais. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-  
12 INGLIS, M.C. (eds.). Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas. Rondonópolis.  
13 1183, p. 549-601, 2001.
- 14
- 15 REZENDE, A.V.; VILELA, H.H.; PEREIRA, R.S.A.; NOGUEIRA, D.A.; LANDGRAF,  
16 P.R.C.; VIEIRA, P.F. Germinação de sementes de *Stylosanthes* misturadas ao sal para  
17 bovinos. In: Congresso de Forragicultura e Pastagens, 2., 2007, Lavras. **Anais...** NEFOR,  
18 Lavras, 2007. CD-ROM.
- 19
- 20 RIBEIRO, R.C.; ROSSIELLO, R.P.; MACEDO, R.O.; BARBIERI JR, E.B. Introdução de  
21 desmódio em pastagem estabelecida de *Brachiaria humidicola*: densidade e frequência da  
22 leguminosa no consórcio. **Revista Universiade Rural**, Série Ciências da Vida, Seropédica,  
23 v.27, n.2, p.41-49, 2007.
- 24
- 25 SEIFFERT, N.F. 1982. **Métodos de escarificação de sementes de leguminosas**  
26 **forrageiras tropicais**. Campo Grande, MS: EMBRAPA Gado de Corte. 6p. (Comunicado  
27 Técnico, 13).
- 28
- 29 SILVA, T.O. **Dispersão, germinação e persistência de leguminosas forrageiras**  
30 **tropicais através das fezes de bovinos**. Seropédica: UFRRJ, 2008. 46 p. Dissertação  
31 (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2008.  
32

- 1 TONIN, F. Fabácea, a “praga” que salvou rebanho *leiteiro*. **DBO Mundo do Leite:**  
2 **Revista do Mercado Lácteo**, São Paulo, v.11, p.18-21, 2004.  
3
- 4 VALENTIM, J.F.; CARNEIRO, J.C. **Quebra da dormência e plantio de puerária em**  
5 **sistemas de produção agropecuários e agroflorestais**. Rio Branco: Embrapa-CPAF-  
6 Acre, (Instruções Técnicas Nº 17), 1998.  
7
- 8 VALETIM, J.F.; ANDRADE, C.M.S; FEITOZA, J.E.; SALES, M.G.; VAZ, F.A.  
9 **Métodos de introdução do amendoim forrageiro em pastagens já estabelecidas no**  
10 **acre**. Rio Branco: Embrapa-CPAF-Acre, (Boletim técnico Nº152), 2002.  
11
- 12 VELÁSQUEZ, P.A.T. **Composição química, digestibilidade e produção de gases “in**  
13 **vitro” de três espécies forrageiras tropicais**. Jaboticabal: Unesp, 2006. 66 p. Dissertação  
14 (Mestrado em Zootecnia) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade  
15 Estadual Paulista, 2006.  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

1 **Tabela 1. Resultados da porcentagem de sementes não destruídas (%Ñ Destruidas)**  
 2 **pela mastigação simulada, porcentagem de germinação (%PG) obtidas nos**  
 3 **tratamentos e porcentagem de sobrevivência de sementes de macrotiloma, soja**  
 4 **perene, cunhã e estilosantes.**

5

Item\Espécie	macrotiloma	soja perene	cunhã	estilosantes	CV%
%Ñ Destruidas	91,50 a	87,97 a	82,09 b	81,07 b	2,80
%PG intactas	6,33 Cd	32,00 Cb	22,00 Cc	<b>85,33 Aa</b>	10,72
%PG escarificadas	<b>64,67 Ab</b>	<b>60,00 Ab</b>	<b>92,00 Aa</b>	<b>87,33 Aa</b>	4,35
%PG mastigadas	19,00 Bc	37,67 BCb	39,67 Bab	45,00 Ba	12,18
%PG mastigadas e escarificadas	<b>58,00 Ab</b>	42,33 Bc	<b>86,00 Aa</b>	39,33 Bc	10,87
% sobrevivência	47,02 b	37,21 c	70,62 a	35,96 c	11,53

6

\* Medias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

7

8

9

10

11

12

13

14

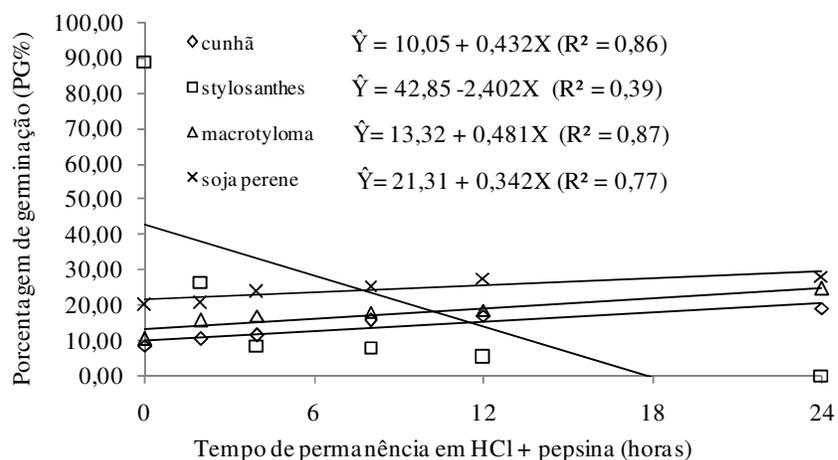
15

16



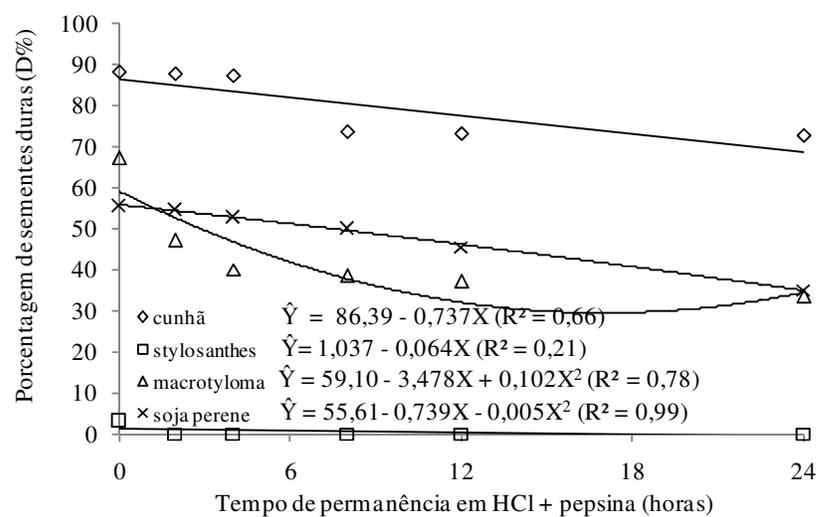
1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20

**Figura 1. Metodologia de “mastigação simulada”.**



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7

**Figura 2. Porcentagem de germinação (PG%) de cunhã, macrotiloma, estilosantes cv. Campo Grande e soja perene em função dos períodos de digestão ácido-enzimática.**



8  
9  
10  
11  
12  
13

**Figura 3. Porcentagem de sementes duras (D%) de cunhã, macrotiloma, estilosantes cv. Campo Grande e soja perene em função dos períodos de digestão ácido-enzimática.**

1     **SEMENTES DE LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS SUBMETIDAS À**  
2                             **TÉCNICA DE FERMENTAÇÃO *in vitro* E *in situ***

3  
4  
5  
6     **Resumo:** O presente experimento foi desenvolvido com a finalidade de avaliar a  
7 sobrevivência de sementes de quatro leguminosas forrageiras tropicais submetidas ao  
8 ensaio de fermentação *in vitro* e ao ensaio *in situ*. As espécies utilizadas foram: cunhã,  
9 estilosantes, soja perene e macrotiloma. No ensaio *in vitro* o delineamento experimental foi  
10 inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x6 (quatro espécies, seis períodos de  
11 fermentação), com quatro repetições, sendo colocado o equivalente a 50 sementes de  
12 apenas uma espécie em cada erlenmeyer de 250 mL, por repetição. Para o ensaio *in situ*,  
13 foram utilizadas quatro vacas mestiças holandês x zebu munidas de fístula ruminal, e o  
14 delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, em esquema fatorial 4 x 6 (quatro  
15 espécies x 6 tempos de incubação), com quatro repetições. No ensaio *in situ*, foi colocado o  
16 equivalente a 50 sementes de apenas uma espécie por saquinho de náilon por repetição, de  
17 tamanho 10x15 cm. Os tempos de fermentação foram: 6, 12, 24, 48, 96 e 144 horas, e o  
18 tempo zero foi realizado no laboratório. Foram determinadas as porcentagens de  
19 germinação de cada espécie em cada tempo de fermentação. Os resultados permitem  
20 observar que as sementes de leguminosas, por possuírem tegumentos duros e  
21 impermeáveis, quando submetidas à fermentação *in vitro* e à digestão ruminal *in situ*,  
22 apresentam alto potencial de resistência, e, desta forma, maiores são suas chances de passar  
23 pelo trato digestório dos bovinos, sendo capazes de germinar quando defecadas nas  
24 pastagens. Contudo, o estilosantes não deve ser inserido na alimentação de bovinos com  
25 este propósito, pois não resiste à fermentação ruminal.

26

27

28     Termos para indexação: germinação, líquido ruminal e digestão ruminal.

29

30

31

32

33

1                   **LEGUMES FORAGE SEEDS SUBMITTED TO *in vitro* AND *in situ***  
2                                   **FERMENTATION TECHNIQUES**

3  
4  
5  
6   **Abstract:** The experiment was carried out to evaluate survival of four tropical legumes  
7 seeds submitted to different periods of ruminal incubation simulated by *in vitro* and *in situ*  
8 fermentation. The species studied were butterfly pea, stylosanthes, archer and perennial  
9 soybean. Four dairy cows Holstein fistuled in rumen was used in the *in situ* stage. *In vitro*  
10 stage a completely randomized design in a factorial arrangement 4x6 (four species, six  
11 treatment periods) was used with four repetitions and a randomized complete block design,  
12 arranged in a factorial 4 x 6 (four species x six incubation periods), with four repetitions,  
13 was used in *in situ* stage. The seeds (50 units of only one specie at each repetition) were  
14 put in the erlenmeyer (250 mL) and *in vitro* stage they're put in the nylon sack and this had  
15 10x15 cm. The times of incubation were: 6, 12, 24, 48, 96 and 144 hours and the time zero  
16 was estimate in the laboratory. The results enable us to observe the legume seeds, by  
17 having hard and impermeable teguments, when submitted to ruminal incubation showed  
18 high resistance potential, and, this way, larger chances of passage through the  
19 gastrointestinal tract of bovine, when defecated in the pastures are able to germinate.  
20 However, not recommended inserted the stylosanthes in the bovine feeding with this  
21 purpose, because it doesn't resist to the ruminal digestion.

22  
23  
24 Index terms: germination, ruminal liquid and *in vitro/in situ* digestion.

25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33

## INTRODUÇÃO

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

O uso de leguminosas surge como alternativa para diminuição do processo erosivo, recuperação e manutenção da fertilidade do solo das pastagens brasileiras. Os benefícios da inserção de leguminosas nas pastagens são inquestionáveis, infelizmente o seu nível de participação nos sistemas de produção pecuários é diminuto. Além disso, no Brasil, são poucos os trabalhos que buscam o desenvolvimento de tecnologia de dispersão de sementes de leguminosas por meio da introdução de sementes na alimentação de bovinos, caprinos, ovinos e/ou equinos (Valentim e Carneiro, 1998, Deminicis et al., 2007, Silva et al., 2007). Por outro lado, muitos estudos, utilizando a coleta de esterco de bovinos sob pastejo documentam que muitas espécies de plantas são capazes de sobreviver à passagem pelo trato digestório dos ruminantes (Stender et al., 1997 e Pakeman et al., 2002). Mas, até hoje, a dispersão de sementes de espécies leguminosas é tratada muito diferentemente na Ecologia e na Zootecnia, contudo, o tema para ambas é de grande relevância em se tratando de dinâmica de populações de plantas nas pastagens brasileiras.

As vantagens da utilização da técnica *in vitro*, para a determinação da sobrevivência de sementes após digestão ruminal, residem na sua rapidez, na uniformidade físico-química do microambiente de fermentação e na conveniência de não se manter animais fistulados. A maioria dos métodos *in vitro*, no entanto, pode apresentar falhas por não se utilizar adequadamente o inóculo, os tampões ou os equipamentos que garantam as condições de pH, anaerobiose, número de microrganismos e nutrientes essenciais para os mesmos (VAN SOEST, 1994). A principal desvantagem do método *in vitro* é a de não reproduzir perfeitamente o ambiente *in vivo*. Entretanto, esta desvantagem pode reverter-se, quando os objetivos do ensaio são os de determinar a sobrevivência/germinação de sementes após digestão ruminal, pois as condições *in vitro* podem ser controladas de maneira a prevenir as flutuações físico-químicas do ambiente.

Desta forma, este trabalho pretendeu analisar o efeito da fermentação ruminal de sementes de quatro leguminosas forrageiras tropicais, utilizando-se a técnica de fermentação *in vitro* e *in situ* sobre a sobrevivência/germinação das mesmas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal e no Laboratório de Fitotecnia da UENF, em Campos dos Goytacazes - RJ, entre agosto de 2007 e fevereiro de 2008. As espécies utilizadas foram: *Clitorea ternatea*, *Stylosanthes* spp. cv. Campo Grande, *Neonotonia wightii* e *Macrotyloma axillare*.

No ensaio *in vitro*, utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 6 (quatro espécies x seis tempos de fermentação), com quatro repetições. As sementes das quatro espécies (50 sementes de apenas uma espécie por repetição) foram colocadas com líquido ruminal obtido via fístula ruminal acrescido de um tampão, simulando a digestão no retículo – rúmem e omaso, à temperatura de 39 °C, e pH de 6,9. O líquido ruminal foi colhido antes da alimentação matinal via fístula ruminal, utilizando-se bomba a vácuo e um Kitassato, com capacidade para 2000 mL, mantido sempre em banho-maria a 39°C. Os preparos dos inóculos foram feitos de acordo com Tilley e Terry (1963), modificado conforme Santos et al. (1996). As sementes foram acondicionadas nos erlenmeyeres de 250 mL contendo 10 mL de líquido ruminal e 40 mL de solução tampão, à temperatura de 39 °C. Os tempos de fermentação foram: 6, 12, 24, 48, 96 e 144 horas, e o tempo zero foi realizado no laboratório. O CO<sub>2</sub> foi inoculado por cerca de 30 segundos, antes e após a adição do líquido ruminal. Ao término dos períodos de fermentação, os jarros foram drenados e as sementes lavadas no próprio jarro, cinco a seis vezes com água destilada. Sequencialmente as sementes foram levadas para a realização do teste de germinação. As sementes foram colocadas em germinador tipo BOD (12 horas de luz) à 25 °C, onde permaneceram durante 10 dias, utilizando-se quatro repetições de 50 sementes por repetição, colocadas para germinar em rolo de papel germiteste umedecidos com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. Foram determinadas as porcentagens de germinação de cada espécie em cada tempo de fermentação.

No ensaio *in situ*, foram utilizadas bovinos mestiços (Holandês x zebu), com peso vivo de 500 kg, providos de fístula ruminal, alojados em baias individuais. A dieta foi constituída de capim elefante picado, sal mineral e água à vontade. A quantidade total de alimento oferecida, diariamente, foi dividida em dois horários, sendo os animais alimentados duas vezes ao dia, às 8 e 18 horas, e a quantidade oferecida foi ajustada em função da sobra observada diariamente, sendo que esta foi controlada para que fosse 10% da quantidade oferecida no dia anterior, de modo a garantir o consumo voluntário dos

1 animais. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, sendo quatro  
2 espécies e quatro repetições. Foi colocado o equivalente a 50 sementes de apenas uma  
3 espécie por saquinho de náilon por repetição, de tamanho 10x15 cm. Os tempos de  
4 incubação foram: 6, 12, 24, 48 96 e 144 horas, e o tempo zero foi realizado no laboratório.  
5 Na incubação, os saquinhos foram atados com fio de náilon e presos a uma barra cilíndrica  
6 de ferro inox com 540 g de peso, que por sua vez, foi presa por uma corrente de ferro de 50  
7 cm de comprimento na cânula, durante o período de incubação. Após a incubação “*in situ*”,  
8 os saquinhos passaram por um processo de lavagem em água destilada, e as sementes  
9 foram levadas para a realização do teste de germinação. As sementes foram colocadas em  
10 germinador tipo BOD (12 horas de luz) à 25 °C, onde permaneceram durante 10 dias.  
11 Foram determinadas as percentagens de germinação de cada espécie em cada tempo de  
12 incubação. Após o teste de germinação das sementes, observou-se alta porcentagem de  
13 sementes duras, exceto no caso do estilosantes. Desta forma, procedeu-se a escarificação  
14 com lixa d’água nº100 destas sementes “intactas” ou “duras”, até serem observadas  
15 ranhuras no tegumento das sementes para a quebra da dormência. Após a escarificação, foi  
16 realizado o teste de germinação, onde as sementes foram colocadas em germinador tipo  
17 BOD à 25°C, com 12 horas de luz.

18 Os resultados da germinação (nos dois ensaios) foram expressos em porcentagem,  
19 sendo submetidos à análise da variância, utilizando o teste de Tukey, a 5% de significância  
20 para a comparação das médias, seguida de uma análise de regressão. Todos os valores  
21 foram transformados, para fins de análise de variância, em  $\arccos\sqrt{x/100}$ .

22

23

24

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

25

26 Foram obtidas, por meio de análise de regressão, as equações que descrevem o  
27 comportamento da porcentagem de germinação (PG%) e porcentagem de dureza (D%) das  
28 sementes submetidas a diferentes períodos de fermentação *in vitro* com líquido ruminal  
29 mais saliva artificial (Figura 1 e 2) e da porcentagem de germinação (PG%) e porcentagem  
30 de dureza (D%) das sementes submetidas a diferentes períodos de incubação ruminal – *in*  
31 *situ*, (Figura 3 e 4).

32 Quanto à porcentagem de germinação, as sementes apresentaram pequeno  
33 acréscimo à medida que se aumentou o período de fermentação até 48 horas, após este  
34 período os valores decresceram ligeiramente. No entanto, as sementes do estilosantes

1 tiveram comportamento contrário às demais, reduzindo rapidamente o número de sementes  
2 germinadas, justamente por conta do número de sementes mortas observadas no teste de  
3 germinação. Este comportamento pode ser justificado pelo fato de que o estilosantes possui  
4 tegumento pouco resistente, haja visto que a recomendação para superação de sua  
5 dormência requer imersão em ácido sulfúrico concentrado durante, no máximo, 10 minutos  
6 (Seiffert, 1982). Prasad et al., (2006) estudando o processo de dispersão de sementes de  
7 *Phyllanthus emblica* por ruminantes em florestas tropicais, observaram que o cervo (*Axis*  
8 *deer*) regurgita sementes intatas de *Phyllanthus emblica* após tê-las retido no rumen por 7-  
9 27 h, e que uma fração considerável (22%) de sementes germinam, embora a porcentagem  
10 de germinação original das sementes consumidas seja de 72%, sugerindo que o tamanho e  
11 a dureza das sementes asseguram o regurgitamento das mesmas, ao invés de serem  
12 defecadas.

13 O comportamento da porcentagem de sementes duras em todas as espécies foi  
14 semelhante, ou seja, houve redução do número de sementes duras à medida que se  
15 aumentou o tempo de incubação ruminal, apesar da inclinação das curvas apresentarem-se  
16 diferentes, ou seja, mais ou menos acentuadas, uma em relação à outra. Contudo, as  
17 espécies macrotiloma, cunhã e soja perene apresentaram alta resistência e sobrevivência de  
18 suas sementes, justamente pela dureza de seus tegumentos. Janzen et al. (1985), em um  
19 estudo sobre a germinação de sementes de *Enterolobium cyclocarpum* escarificadas e não  
20 escarificadas, submetidas à técnica de fermentação *in vitro* usando líquido ruminal  
21 (bovino) e inóculo cecal (equino), observaram que, após 24 horas de exposição à  
22 fermentação *in vitro*, 90% das sementes escarificadas morre e que todas as sementes não  
23 escarificadas germinaram no teste de germinação. Este comportamento sugere que a  
24 escarificação das sementes promovida pela microbiota, temperatura e imersão em líquido  
25 ruminal tenha provocado pequeno efeito sobre a permeabilidade do tegumento das  
26 sementes de cunhã, soja perene e macrotiloma, e que as sementes de estilosantes sofrem  
27 danos letais quando submetidas à passagem pelo rúmen, independente do período de  
28 permanência. Pesquisando a germinação de sementes incubadas no rúmen de ovinos e  
29 caprinos, Robles e Castro (2002) observaram elevada taxa de germinação se o  
30 revestimento for corroído, o que ocorre quando as sementes são incubadas no rúmen (32%  
31 até 48h de incubação ruminal contra 12% para o controle). Mouissie et al. (2005),  
32 estudando a sobrevivência de sementes de 25 espécies de plantas introduzidas na  
33 alimentação de cervos (*Dama dama* L), observaram que 24 das 25 espécies de plantas que  
34 tiveram sementes ingeridas pelos animais sobreviveram e germinaram nas fezes (0,5 –

1 42% das sementes ingeridas) e que 50% de todas as sementes foram recuperadas no  
2 período de até 25 h, variando de 13 a 38 h.

3 As leguminosas apresentam latência física das sementes devido à presença de um  
4 tegumento duro e impermeável, assim precisam ser escarificadas para germinar (Izhaki e  
5 Ne'Eman, 1997). Em Salta, província da região do Chaco da Argentina, Ortega et al.  
6 (2001) examinando a germinação de sementes *Caesalpinia paraguariensis* após passagem  
7 pelo trato digestório de bovinos, notaram baixa taxa de germinação das sementes e que a  
8 porcentagem de germinação não aumenta, isto porque as sementes viáveis estão dormentes  
9 devido ao seu forte tegumento impermeável. Para Peco et al. (2006), espécies com  
10 tegumentos impermeáveis apresentam maiores porcentagens de germinação após passagem  
11 pelo trato digestório de bovinos, embora nenhuma diferença significativa possa ser notada  
12 na sobrevivência ou na velocidade de germinação. A hipótese de que a latência se rompe  
13 quando as sementes passam pelo trato digestório de animais, é amplamente aceita, no  
14 entanto, existem resultados contraditórios (Janzen, 1981; Peinetti et al., 1993; Izhaki e  
15 Ne'Eman, 1997; Campos e Ojeda, 1997; Ortega, 1999; Manhães et al., 2003; Chang et al.,  
16 2005), e que podem ser confirmados pela observação das Figuras 5 e 6, as quais mostram  
17 que não houve quebra da dormência em grande parte das sementes submetidas à  
18 fermentação, seja ela *in vitro* ou *in situ*, contudo estes resultados sugerem que grande parte  
19 sobrevive e poderá germinar. Fica claro que as sementes introduzidas na dieta destes  
20 animais que sobreviverem à degradação ruminal, permanecendo dormentes, poderão  
21 germinar nas fezes de bovinos.

22

23

24

## CONCLUSÕES

25

26 A digestão ruminal, simulada pelas técnicas de fermentação *in vitro* e *in situ*,  
27 mostraram que as sementes com tegumentos resistentes têm alto potencial para serem  
28 introduzidas na dieta de bovinos, pois a digestão ruminal apresenta baixo risco,  
29 especialmente às sementes de cunhã, soja perene e macrotiloma.

30

31 Nas condições deste estudo, o estilosantes não deve ser inserido na alimentação de  
32 bovinos, com o fim de introduzi-lo nas pastagens, justamente por ser sensível a etapa de  
digestão ruminal.



- 1 IZHAKI, I.; NE'EMAN, D.G. Hares (*Lepus* spp.) as seed dispersers of *Retama raetam*  
2 (*Fabaceae*) in a sandy landscape. **Journal of Arid Environments**, London, v.37, p.343-  
3 354, 1997.
- 4
- 5 JANZEN, D.H. *Enterolobium cyclocarpum* seed passage rate and survival in horses, Costa  
6 Rican Pleistocene seed dispersal agents. **Journal of Ecology**.London, v.62, p.593-601,  
7 1981.
- 8
- 9 JANZEN, D.H.; DEMMENT, M.W.; ROBERTSON, J.B. How Fast and Why do  
10 Germinating Guanacaste Seeds (*Enterolobium cyclocarpum*) Die Inside Cows and Horses?  
11 **Biotropica**, St. Louis, v.17, n.4, p.322-325, 1985.
- 12
- 13 MANHÃES, M.A., L.C.S. ASSIS E R.M. CASTRO. Frugivoria e dispersão de sementes  
14 de *Miconia urophylla* (*Melastomataceae*) por aves em um fragmento de Mata Atlântica  
15 secundária em Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de ornitologia**, São  
16 Paulo, v.11, n.2, p.173-180, 2003.
- 17
- 18 MOUISSIE, A.M.;VEEN, C.E.J.V.D.; VEEN, G.F.; DIGGELEN, R.V. Ecological  
19 correlates of seeds survival after ingestion by Fallow Deer. **Functional Ecology**, London,  
20 v.19, p.284-290, 2005.
- 21
- 22 ORTEGA, B.P. **Emergencia y supervivencia de plántulas de *Prosopis ferox* en el**  
23 **Parque Nacional Los Cardones**. 1999. (Salta, Argentina). Tesis de Licenciatura.  
24 Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina.
- 25
- 26 ORTEGA, B.P.; VIANA, M.L G.; LARENAS, SARAVIA, M. Germinación de semillas de  
27 *Caesalpinia paraguariensis* (*Fabaceae*): agentes escarificadores y efecto del ganado.  
28 **Revista de Biología Tropical**, San José, v.49, n.1, p.301-304, 2001.
- 29
- 30 PAKEMAN, R.J.; DIGNEFFE, G.; SMALL, J.L. Ecological correlates of endozoochory  
31 by herbivores. **Functional Ecology**, London, v.16, p.296-304, 2002.
- 32

- 1 PECO, B., L. LOPEZ-MERINO, M. ALVIR. Survival and germination of Mediterranean  
2 grassland species After simulated sheep ingestion: ecological correlates with seed traits.  
3 **Acta oecologica**, London, v.30, p.269–275, 2006.  
4
- 5 PEINETTI, R.M.; PEREYRA, M. A.; KIN, A. SOSA. Effect of cattle ingestion on  
6 viability and germination rate of caldén (*Prosopis caldenia*) seeds. **Journal of Range**  
7 **Management**, Tucson, v.46, p.483-486, 1993.  
8
- 9 PRASAD, S.; KRISHNASWAMY, J.; CHELLAM, R.; GOYAL, S.P. Ruminant-mediated  
10 Seed Dispersal of an Economically Valuable Tree in Indian Dry Forest. **Biotropica**, v.38,  
11 n.5, p.679–682, 2006.  
12
- 13 ROBLES, A.; CASTRO, J. Effect of thermal shock and ruminal incubation on seed  
14 germination in *Helianthemum apenninum* (L.) Mill. (Cistaceae). **Acta Botánica**  
15 **Malacitana**, Málaga, v. 27, p. 41-47, 2002.  
16
- 17 SANTOS, G.T.; CECATO, U.; RIGOLON, L.P. Composição química e fermentação *in*  
18 *situ* da Leucena (*Leucaena leucocephala*) e do Desmodium (*Desmodium ovalifolium*)  
19 submetidos à conservação na forma de feno e silagem. In: REUNIÃO ANUAL DA  
20 SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., 1996, Fortaleza, CE. **Anais...**  
21 Fortaleza: SBZ, 1996, p. 347-349.  
22
- 23 SEIFFERT, N.F. **Métodos de escarificação de sementes de leguminosas forrageiras**  
24 **tropicais**. Campo Grande, MS: EMBRAPA Gado de Corte: 1982. 6p. (Comunicado  
25 Técnico, 13).  
26
- 27 SILVA, T.O., ALMEIDA, J.C.C., ROCHA, N.S.; COSTA, Z.S.; LIMA, G.P.; GRASSI,  
28 P.H.; FERREIRA, T.C.; ARAÚJO, R.P., ABREU, J.B.R. Dispersão e germinação de  
29 leguminosas forrageiras tropicais através das fezes de bovinos. In: Congresso Internacional  
30 de Zootecnia, 9., 2007, Londrina. **Anais...** ZOOTEC, Londrina, 2007. CD-ROM.  
31
- 32 STENDER, S.; POSCHLOD, P.; VAUK-HENTZELT, E.; DERNEDDE, T. Die  
33 Ausbreitung durch Galloway-Rinder. **Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie**,  
34 Berlin, v.27, p.173-180, 1997.

1

2 TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage  
3 crops. **Journal of the British Grassland Society**, Hurley, v.18, n.2, p.104-111, 1963.

4

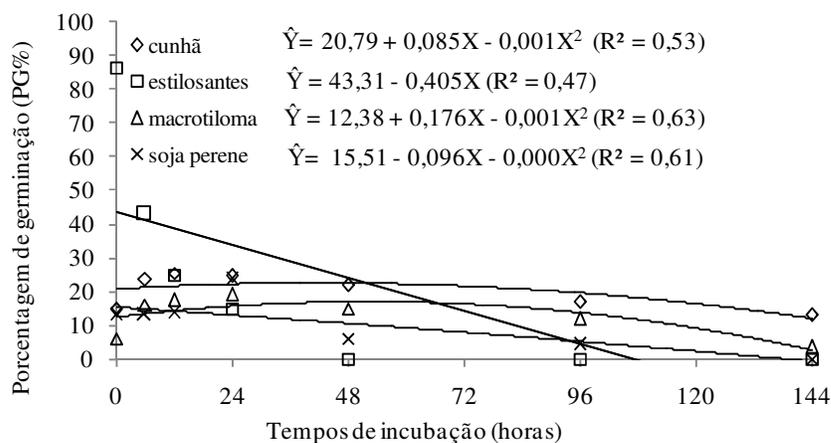
5 VALENTIM, J.F.; CARNEIRO, J.C. **Quebra da dormência e plantio de puerária em**  
6 **sistemas de produção agropecuários e agroflorestais**. Rio Branco: Embrapa-CPAF-  
7 Acre, 1998 (INSTRUÇÕES TÉCNICAS Nº 17).

8

9 VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca, NY: Cornell Univ.  
10 Press, 1994.

11

12



13

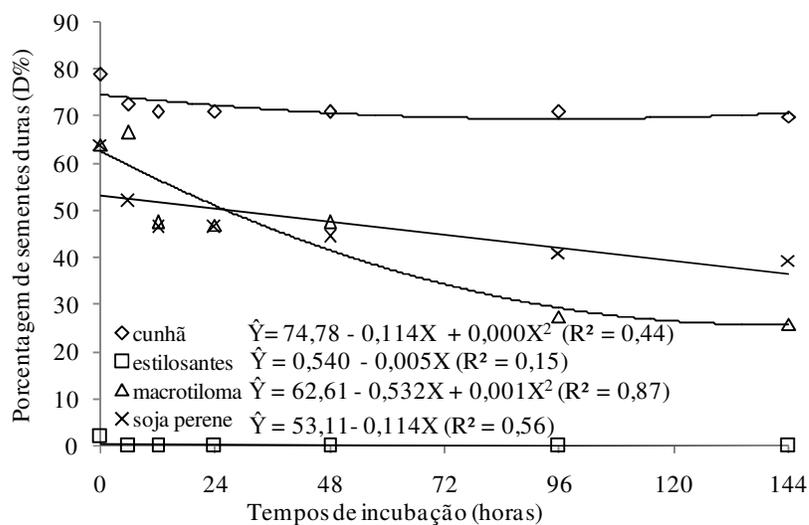
14

15 **Figura 1. Regressão para porcentagem de germinação de sementes duras de**  
16 **cunhã, estilosantes, soja perene e macrotiloma em função de períodos de fermentação**  
17 ***in vitro*.**

18

19

20



1

2

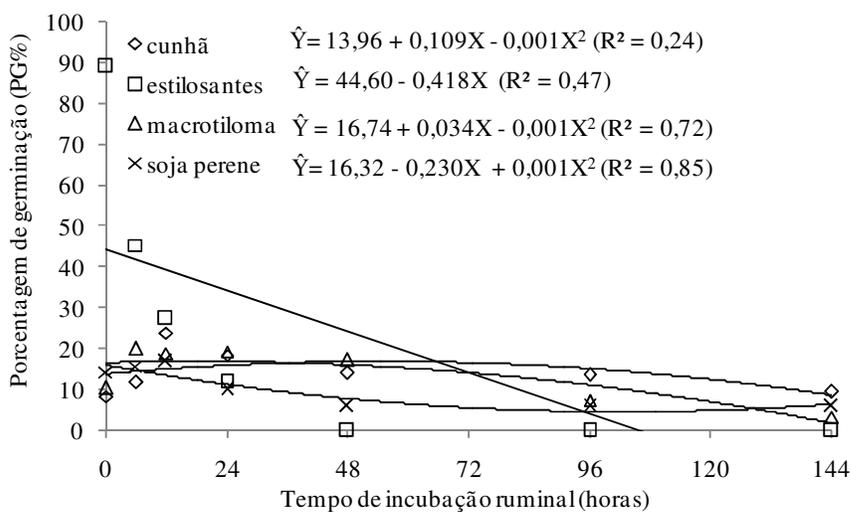
3 **Figura 2. Regressão para porcentagem de sementes duras de cunhã, estilosantes,**  
 4 **soja perene e macrotiloma em função de períodos de fermentação *in vitro*.**

5

6

7

8



9

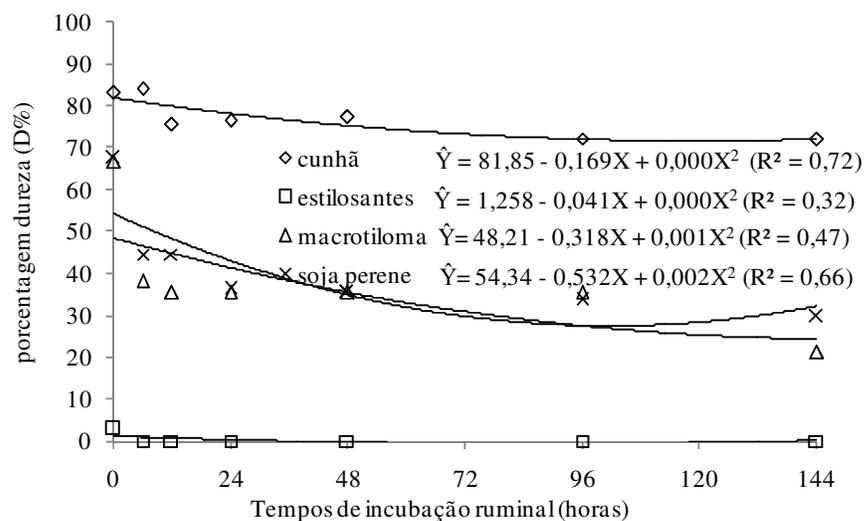
10

11 **Figura 3. Regressão para porcentagem de germinação de sementes de cunhã,**  
 12 **estilosantes, soja perene e macrotiloma em função de períodos de incubação ruminal**  
 13 **(*in situ*).**

14

15

1



2

3

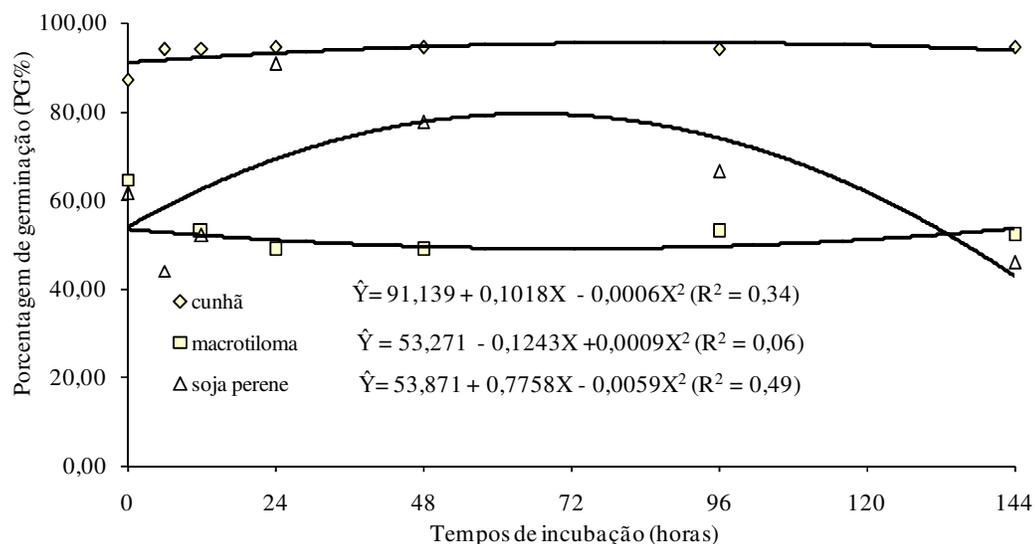
4 **Figura 4. Regressão para porcentagem de sementes duras de cunhã, estilosantes,**  
 5 **soja perene e macrotiloma em função de períodos de incubação ruminal (*in situ*).**

6

7

8

9



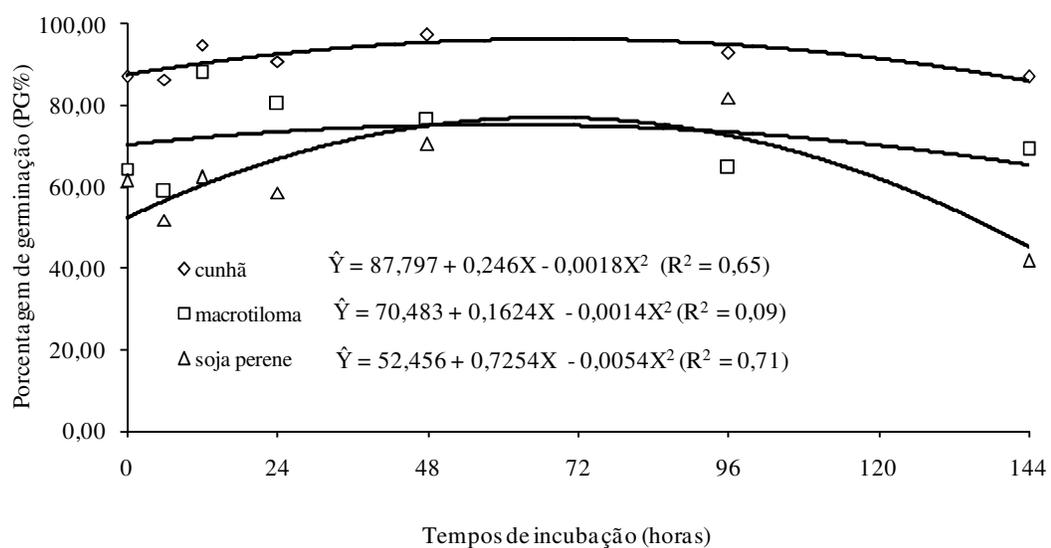
10

11 **Figura 5. Regressão para porcentagem de germinação de sementes “duras” de**  
 12 **cunhã, soja perene e macrotiloma em função de períodos de fermentação *in vitro* e**  
 13 **após serem escarificadas.**

14

1

2



3

4 **Figura 6. Regressão para porcentagem de germinação de sementes “duras” de**  
5 **cunhã, soja perene e macrotiloma em função de períodos de incubação ruminal (*in***  
6 ***situ*) e após serem escarificadas.**

## 1           **RECUPERAÇÃO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE LEGUMINOSAS** 2                           **FORRAGEIRAS TROPICAIS EM FEZES DE BOVINOS**

3  
4  
5  
6   **Resumo:** O presente experimento foi desenvolvido com a finalidade de avaliar a  
7 recuperação e sobrevivência de sementes de leguminosas forrageiras tropicais submetidas  
8 ao trato digestório de bovinos e, também, avaliar a germinação destas sementes em placas  
9 fecais de bovinos em casa de vegetação, com intuito de constatar a possibilidade de  
10 introduzi-las em uma pastagem já estabelecida. Para avaliar a recuperação das sementes,  
11 foi realizado ensaio em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com  
12 quatro repetições, sendo analisada a recuperação e germinação de sementes em função do  
13 período de excreção. Para estudar a germinação das sementes nas placas fecais, foi  
14 realizado um ensaio com delineamento experimental inteiramente ao acaso, em um  
15 esquema fatorial 4 (espécies) x 3 (períodos de dispersão) com 4 repetições, sendo analisada  
16 a presença de plantas nas placas fecais em função do período de excreção. Em ambos  
17 ensaios foi oferecida aos animais a quantidade de 50 g de sementes misturadas a 150 g de  
18 suplemento mineral, por bovino, por repetição. No ensaio de recuperação, foram utilizadas  
19 as espécies cunhã, estilosantes, soja perene e macrotiloma e as fezes bovinas foram  
20 coletadas até 60 horas após a ingestão das sementes, de onde as sementes foram separadas  
21 através de tamises, utilizando-se de água, luvas de procedimento e pinças; posteriormente,  
22 foram contadas e divididas em intactas e intumescidas. Para o teste de germinação das  
23 sementes recuperadas, foram utilizadas 75 sementes por repetição (25 in natura, 25 intactas  
24 e 25 sementes intumescidas, respectivamente). No ensaio de germinação nas placas fecais,  
25 foram utilizadas as espécies cunhã, soja perene e macrotiloma, onde as fezes bovinas  
26 foram coletadas entre 12 e 30 horas após a ingestão das sementes, no qual, aos 120 dias,  
27 foram avaliadas a quantidade total de plantas emergidas dentro do período estudado (entre  
28 12 e 30 horas), bem como o número médio de plantas emergidas por placas fecal. A partir  
29 dos resultados obtidos pode-se concluir que: os bovinos constituem facilitadores na  
30 dispersão de cunhã, macrotiloma e soja perene, mas não de estilosantes. E o melhor  
31 desempenho quanto ao número médio de plantas germinadas nas placas fecais foi  
32 alcançado pela espécie macrotiloma, sendo seguido pelas espécies cunhã e soja perene.

33  
34   Termos para indexação: Dispersão, pastagens, dormência de sementes e placa fecal.

# 1 RECOVERY AND SEEDS GERMINATION OF TROPICAL FORAGE LEGUMES IN 2 BOVINE DUNGS

3  
4  
5  
6 **Abstract:** The present experiment was developed with the purpose of evaluating the  
7 recovery and survival of tropical legume seeds submitted to the digestive treatment of  
8 bovine rehearsal and evaluating the seeds germination of this seeds in bovine dungs in  
9 greenhouse, with intention to verify the possibility to already introduce them in a pasture  
10 established. For study the seeds recovery an assay was accomplished with a completely  
11 randomized design (DIC), with four repetitions (cows) was used, being analyzed the  
12 recovery of seeds in function of the period powders - ingestion and the germination. For  
13 study the seeds germination in bovine dungs an assay was accomplished with a entirely  
14 randomized design, in factorial arrangement 4 (species) x 3 (dispersion periods) with a 4  
15 repetitions, being analyzed the presence plants in the fecal plates in function of the period  
16 powder-ingestion in that were excreted. In both assays the amount of the 50 g of seeds with  
17 150 g of mineral supplement for bovine was offered to the animals for repetition. In assay  
18 of recovery the used species were: butterfly pea, stylosanthes, archer, and perennial  
19 soybean and the bovine feces were collected up to 60 hours after the ingestion of the seeds.  
20 The seeds were separate from the feces, through sieves, being used for this end, water,  
21 procedure gloves and tweezers, later they were counted and divided in intact and swollen.  
22 For the germination test 75 seeds were used by repetition (25 in natura, 25 intact and 25  
23 swollen seeds, respectively). In the assay of seeds germination in bovine dungs the used  
24 species were: butterfly pea, archer, and perennial soybean and the bovine dungs were  
25 collected between 12 and 30 hours after the ingestion of the seeds, allocated in vases and  
26 stayed 120 days in that. Starting from the obtained results it can be ended that: The bovine  
27 constitute the dispersion facilitators for butterfly pea, archer and perennial soy bean, but  
28 not of stylosanthes. The best acting with relationship to the medium number of plants  
29 germinated in the fecal lates it was reached by archer, being followed by the butterfly pea  
30 and perennial soy bean.

31

32 Index terms: Dispersion, pastures, seeds dormancy and bovine dung.

33

## INTRODUÇÃO

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

A adoção de sistemas de pastagens consorciadas entre gramíneas e leguminosas forrageiras é uma alternativa interessante para incrementar a produtividade animal e esta estratégia tem a finalidade de integrar a produtividade das gramíneas forrageiras com o alto valor nutricional e a fixação de nitrogênio que as leguminosas forrageiras atribuem ao sistema (Bennetti et al., 1999, Aita et al., 2001, Souza et al., 2002; Aroeira et al., 2005).

Um dos principais entraves na adoção de pastagens consorciadas entre gramíneas e leguminosas, onde a primeira já se encontra estabelecida, é o custo de implantação destas ao sistema de exploração.

Nas últimas décadas, pesquisadores têm constatado que a dispersão de sementes por animais herbívoros pode influenciar no processo de colonização de pastagens, afetando a estrutura e a composição das comunidades vegetais (Levine e Murrell, 2003; Andrade et al., 2008).

Apesar da visão clássica de que a passagem das sementes pelo trato digestório dos animais auxilia no processo germinativo, alguns estudos têm ressaltado que os efeitos da digestão na germinação podem variar consideravelmente, podendo a capacidade germinativa aumentar, diminuir, ou não sofrer alterações, quando comparadas com sementes que não foram ingeridas (Figueroa e Castro, 2002). Embora seja reconhecida a importância da ressemeadura natural na renovação e persistência de espécies em pastagens, o papel desempenhado pelos bovinos nesse processo é um assunto pouco conhecido (Blackshaw e RODE, 1991). Entretanto, é certo que sementes pequenas de espécies de forrageiras se mantêm viáveis depois de passarem pelo trato digestório de ruminantes (Bray et al., 1998).

A utilização de bovinos como agentes dispersores é uma tecnologia interessante a longo prazo para que esses vegetais possam ser disseminados em grandes áreas, uma vez estabelecidas, as leguminosas tendem a se perpetuarem no espaço através do tempo (Silva et al., 2007).

Baseado nestas informações, este trabalho teve como objetivo avaliar a recuperação de sementes, a influência do trato digestório dos bovinos na emergência de plântulas e avaliar a germinação/sobrevivência das sementes pela observação da presença de plantas em placas fecais bovinas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos, conduzidos nas instalações do Setor de Forragicultura e Nutrição de Ruminantes do Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal, no Setor de Sementes e na Casa de Vegetação do Laboratório de Fitotecnia (com nível de sombra obtido com uso de sombrite de 50% de interceptação luminosa), pertencentes ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), no município de Campos dos Goytacazes, RJ, entre dezembro de 2007 a abril de 2008. O primeiro experimento tratou de avaliar a recuperação de sementes em fezes bovinas e a sua sobrevivência e o segundo experimento tratou de estudar a germinação das sementes nas placas fecais.

No ensaio de recuperação de sementes nas fezes, foram oferecidos 50 g de sementes de cunhã (*Clitorea ternatea*), estilosantes cv. Campo Grande (*Stylosanthes capitata* e *Stylosanthes macrocephala*), macrotiloma (*Macrotyloma axillare*) e soja perene (*Neonotonia wightii*) à bovinos mestiços (Holandês x zebu), com peso vivo de 500 kg, correspondendo a aproximadamente 1.000 sementes de cunhã, 17.500 sementes de estilosantes, 149.500 de soja perene e 5.000 de macrotiloma; todas in natura, cuja umidade se encontrava em torno de 22,7%; 12,3%; 25,9%; 27,8, respectivamente. As sementes foram oferecidas, de uma só vez, misturadas em 150 g de mistura mineral para bovinos, durante a alimentação matinal. Os rejeitos dos bovinos foram coletados até 60 horas após a ingestão das sementes, justamente porque neste período não se constatou mais a presença de sementes nas fezes. As fezes dos animais foram coletadas e levadas para o laboratório, onde as sementes foram separadas, através de tamises, utilizando-se, para este fim, água, luvas de procedimento e pinças. Logo, em seguida, as sementes foram contadas e divididas em duas classes: sementes intactas (sementes cujo tegumento não foi afetado na ingestão e digestão) e sementes intumescidas.

Para o teste de germinação, foram utilizadas 75 sementes por repetição (25 in natura, 25 intactas e 25 sementes intumescidas). Vale ressaltar que, como é possível retirar sementes digeridas das fezes para a contagem, a diferença entre o número de sementes ingeridas e o número de sementes encontradas nas fezes foi considerada como o número de sementes digeridas. As sementes intactas e as in natura foram escarificadas com lixa d'água nº100, até serem observadas ranhuras no tegumento das sementes para a quebra da dormência. Após a escarificação, foi realizado o teste de germinação, em que as sementes foram colocadas em germinador tipo BOD à 25°C, com 12 horas de luz. As sementes

1 intumescidas não foram escarificadas, foram postas diretamente para germinar. O  
2 delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro  
3 repetições (bovinos), sendo analisada a recuperação de sementes em função do período de  
4 excreção, sendo as plantas normais o parâmetro analisado no teste de germinação, tendo  
5 seu término 22 dias após a data do semeio, sendo os resultados submetidos à análise de  
6 variância e teste de médias (Tukey à 5%) para a comparação das médias.

7       No ensaio de germinação de sementes nas placas fecais bovinas, foram oferecidas 50  
8 g de sementes de cunhã (*Clitorea ternatea*), estilosantes cv. Campo Grande (*Stylosanthes*  
9 *capitata* e *Stylosanthes macrocephala*), macrotiloma (*Macrotyloma axillare*) e soja perene  
10 (*Neonotonia wightii*) à bovinos mestiços (Holandês x zebu), com peso vivo de 500 kg,  
11 alojados em baias individuais. Isto corresponde a aproximadamente 1.000 sementes de  
12 cunhã, 17.500 sementes de estilosantes, 149.500 de soja perene e 5.000 de macrotiloma,  
13 todas *in natura*, cuja umidade se encontrava em torno de 22,7; 12,3; 25,9 e 27,8%,  
14 respectivamente. As sementes foram oferecidas, de uma só vez, misturadas em 150 g de  
15 mistura mineral para bovinos, durante a alimentação matinal. Os rejeitos dos bovinos  
16 foram coletados totalmente entre 12 e 30 horas após a ingestão das sementes (subdivididas  
17 em 12-18, 18-24 e 24-30 horas). As fezes coletadas foram levadas em sacolas plásticas  
18 para a casa de vegetação e dispostas em vasos cilíndricos (altura 15,0 cm, diâmetro  
19 superior 32,0 cm, diâmetro inferior 18,0 cm e volume 7,0 l) com prato (altura 2,0 cm e  
20 diâmetro 21,0 cm), preenchidos com areia lavada, com o objetivo de reproduzir condições  
21 de campo de solo degradado, onde permaneceram por 120 dias. A areia utilizada foi  
22 peneirada em malha de 2 mm, sendo, em seguida, tratada durante 36 horas, com ácido  
23 clorídrico PA, diluído em água, numa proporção de 600 mL de ácido para cada 10 L de  
24 água, mantendo-se lâmina de 10 cm da solução ácida acima do nível da areia, em baldes de  
25 polietileno. Após esse período, a areia foi lavada com água corrente, até que fosse retirado  
26 o excesso de ácido, alcançando o pH próximo de 7,0 em água deionizada. Durante todos os  
27 dias de condução do experimento, as fezes foram irrigadas diariamente com 6 mm de água,  
28 equivalente a 6 litros de água por metro quadrado de área, de acordo com a precipitação  
29 média diária local, no período de verão-outono. Aos 120 dias, as plantas presentes nas  
30 placas foram simplesmente contadas. Na Figura 1, estão resumidos os passos  
31 metodológicos deste estudo, para devida compreensão. O delineamento experimental  
32 adotado foi inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 4 (espécies) x 3 (períodos de  
33 dispersão) com quatro repetições, sendo analisada a presença de plantas nas placas fecais

1 em função do período de excreção em que foram excretadas e o número médio de plantas  
2 por placa fecal.

3 A composição da mistura mineral “completa” para gado de corte utilizada foi a  
4 seguinte (por kg do produto): Ca = 172,93 g; P = 41,8 g; Na = 157,09 g; Mg = 7,14 g; S =  
5 26,39 g; Fe = 1598,8 mg; F = 418 mg; Co = 80 mg; Cu = 1250 mg; I = 97,6 mg; Se = 37,5  
6 mg; Zn = 3800 mg; Mn = 764,4 mg e Solubilidade do P em ác. Cítrico à 2% = 90%.  
7 Sendo o teor de sódio da mistura mineral utilizada (15%) semelhante ao teor encontrado  
8 em sal branco para bovinos (16%).

9 Nos dois experimentos os animais permaneceram em baias individuais de 5 x 5 m,  
10 consumindo água a vontade e submetidos a uma dieta básica de capim-elefante picado e  
11 concentrado na proporção de 70:30 com base na matéria seca, balanceados para atingirem  
12 a exigência de manutenção dos animais. O oferecimento do alimento foi realizado às 09:00 e  
13 às 15:00 horas. Sete dias antes do oferecimento das sementes, os animais foram confinados  
14 e privados do oferecimento de suplementação mineral. Os resultados foram submetidos à  
15 análise de variância e teste de médias (Tukey à 5%) para a comparação das médias. Todos  
16 os valores foram transformados, para fins de análise de variância, em  $\arccos\sqrt{x/100}$ .

17

18

19

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

20

### *Recuperação e sobrevivência das sementes*

21

22  
23 Os resultados obtidos neste trabalho encontram-se na Tabela 1. A análise da  
24 variância mostrou efeito significativo ( $P < 0,05$ ) para espécies e para a forma com que as  
25 sementes se apresentaram nas fezes.

26 O número de sementes recuperadas nas fezes apresentou variação entre animais,  
27 embora estes animais tenham sido selecionados por raça, peso e idade e manejados em  
28 baias. Essas variações também foram observadas por Lisboa et al. (2009). Do total de  
29 sementes colocado no cocho, com suplemento mineral, e ingerido, uma quantidade  
30 estimada de 28,5; 56,8; 30,3 e 2,1% de sementes de macrotiloma, cunhã, soja perene e  
31 estilosantes, respectivamente, foi recuperado nas fezes. A passagem de sementes inteiras  
32 pelo trato digestório de ruminantes tem sido observada em espécies de gramíneas e  
33 leguminosas, cultivadas e nativas. Valores semelhantes foram encontrados por alguns  
34 autores, como Lisboa et al. (2009) e Deminicis et al. (2009). Nos resultados obtidos

1 constatou-se que, do total de sementes fornecidas aos animais (ingeridas), 14,0; 33,8; 15,5  
2 e 0,08% das sementes apresentaram-se intactas, e 14,5; 23,0; 14,8 e 2,0% apresentaram-se  
3 intumescidas, para macrotiloma, cunhã, soja perene e estilosantes, respectivamente.

4 De acordo com os testes de germinação pôde-se constatar germinação de 49,5; 94,3;  
5 50,5 e 36,0%, para macrotiloma, cunhã, soja perene e estilosantes, respectivamente. Assim,  
6 desconsiderando alguns fatores externos como ataque de insetos e de animais às sementes,  
7 e considerando as condições favoráveis de germinação, estima-se que das 14,1; 53,5; 15,4  
8 e 0,8% de sementes de macrotiloma, cunhã, soja perene e estilosantes, respectivamente,  
9 que são ingeridas pelos bovinos estão aptas a germinar nas fezes.

10 Foram obtidas, por meio de análise de regressão, as equações que descrevem o  
11 comportamento da porcentagem de sementes recuperadas e germinadas, após passagem  
12 pelo trato digestório dos bovinos (Figura 2). Mouissie et al. (2005), estudando a  
13 sobrevivência de sementes de 25 espécies de plantas introduzidas na alimentação de cervos  
14 (*Dama dama* L.), observaram que 24 das 25 espécies de plantas ingeridas pelos animais  
15 sobreviveram e germinaram nas fezes (0,5 - 42% das sementes ingeridas) e que 50% de  
16 todas as sementes foram recuperadas no período de até 25 h, variando de 13 a 38 h, o que  
17 está de acordo com os resultados obtidos neste estudo. Bråthen et al. (2007) estudaram a  
18 lotação animal (alces) sobre a endozoocoria, abrangendo diversos contextos ecológicos e  
19 encontraram efeitos da lotação sobre a escala espacial de dispersão e verificaram que as  
20 densidades mais elevadas de alces na pastagem proporcionaram maior abundância de fezes  
21 e estas contendo poucas espécies de plantas emergentes. Além disso, não observaram  
22 efeito das densidades mais elevadas de animais, sobre o nível de agrupamento das excretas.  
23 A composição botânica do pasto foi considerada como um fator ecológico importante, pois  
24 as espécies mais abundantes são as mesmas que possuem o maior número de plântulas  
25 emergidas nas fezes, dominando assim os pastos. Os resultados deste estudo demonstram  
26 que os ruminantes podem neutralizar o impacto negativo do pastejo pelo retorno de  
27 sementes viáveis em suas fezes.

28

### 29 ***Germinação das sementes nas placas fecais***

30

31 Os resultados obtidos neste ensaio encontram-se nas Figuras 3 e 4. Ao analisar a  
32 variável número total de plantas observado nas placas fecais excretadas entre 12 e 30 horas  
33 após a ingestão, foi constatado que, após 120 dias, a espécie macrotiloma apresentou uma

1 média aproximadamente de 64 plantas, caracterizando um melhor desempenho frente às  
2 demais espécies sob as condições impostas neste experimento.

3 As espécies soja perene e cunhã apresentaram médias intermediárias (ambas  
4 apresentaram 48 plantas), enquanto que a espécie estilosantes obteve baixos resultados (3  
5 plantas/placa). Tais resultados estão relacionados principalmente com a eficiência da  
6 quebra de dormência das sementes de cada leguminosa analisada, através da passagem  
7 pelo trato digestório dos bovinos, além da resistência do tegumento e do embrião.  
8 Entretanto, outros fatores podem ter sido determinantes para os resultados obtidos, dentre  
9 eles são destacados: a fermentação das fezes, a alta contaminação por fungos e bactérias, o  
10 posicionamento das sementes no bolo fecal, a espessura do bolo fecal, a desidratação da  
11 superfície do bolo fecal.

12 Bruun e Poschlod (2006), investigando a dispersão por endozocoria de sementes  
13 através do trato digestório de bovinos e a abundância de sementes em amostras de fezes  
14 relacionadas aos atributos da semente, observaram que as sementes ingeridas que passaram  
15 através do trato digestório dos bovinos, sobreviveram em grande proporção, produzindo a  
16 área de unidade na vegetação pastejada, mas nenhum efeito foi encontrado entre o  
17 potencial de dispersão (medido como a abundância de sementes nas amostras de fezes) e os  
18 atributos da semente, tais como a massa da semente, a forma e espessura do revestimento  
19 da semente. Isto mostra a evidente importância do número de sementes produzidas por  
20 planta na habilidade de dispersão das espécies vegetais. Além disso, mostra que o pastejo  
21 pode constituir um vetor importante de dispersão para muitas espécies de plantas  
22 classificadas convencionalmente como invasoras. Silva et al. (2007), avaliando também a  
23 germinação de 5 leguminosas distribuídas em placas fecais a campo, relataram que a  
24 espécie *macrotiloma* apresentou média de 13 plantas por placa fecal, concordando com os  
25 resultados desse trabalho, apesar das quantidades de sementes ingeridas neste estudo serem  
26 menores que as utilizadas no estudo realizado pelos referidos autores. Além disso, no  
27 experimento destes autores as placas fecais foram observadas em uma pastagem já  
28 estabelecida, onde a competição por luminosidade, umidade e fertilidade é acirrada entre as  
29 plantas. A resposta da soja perene (9,6 plantas por placa) e do *Stylosanthes* (3 plantas por  
30 placa) foram similar a observada por Silva et al. (2007), podendo ser evidenciados na  
31 Figura 3 e 4.

32 O desempenho do *macrotiloma* destaca a grande superioridade com relação as  
33 outras espécies utilizadas, demonstrando seu grande potencial quando utilizado neste  
34 método de disseminação em áreas de pastagem. Contudo, esses resultados não devem

1 atribuir a esta espécie a condição de melhor planta para esse fim, uma vez que deve ser  
2 levada em consideração a porcentagem de sementes germinadas em relação às sementes  
3 ingeridas. Neste sentido, como sabemos que aproximadamente foram ingeridas 1.000  
4 sementes de cunhã, 17.500 sementes de estilosantes, 149.500 de soja perene e 5.000 de  
5 macrotiloma, podemos estimar que apenas 1,27; 0,95; 0,95 e 0,06% das sementes de  
6 macrotiloma, cunhã, soja perene e estilosantes germinará nas placas fecais, até os 120 dias  
7 após serem excretadas, e que, possivelmente, sementes de outras forrageiras podem estar  
8 nas placas fecais aguardando uma situação mais adequada para germinarem. Jones et al.  
9 (1991) avaliaram a germinação de sementes de diversas espécies por 11 anos no estado de  
10 Queensland, sudeste da Austrália, coletando fezes bovinas em 2 tipos de pastagem de  
11 *Setaria sphacelata* (consoviada com *Macroptilium atropurpureum* e não consoviada) sob  
12 diferentes taxas de lotação (alta e baixa), na primavera, verão, outono e inverno. E  
13 observaram que a porcentagem de sementes germinadas nas fezes foi mais elevada no  
14 verão-outono do que no inverno-primavera, e nos piquetes com altas taxas de lotação do  
15 que nos com baixas taxas de lotação, o que provavelmente seja efeito da quantidade e  
16 disponibilidade de sementes ingeridas por esses animais, durante o período das chuvas.

17  
18

## 19 CONCLUSÕES

20

21 A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que: os bovinos constituem  
22 facilitadores na dispersão de cunhã, macrotiloma e soja perene, mas não de estilosantes.

23 As sementes com tegumento mais resistente à digestão são os propágulos com  
24 maior dormência, consoviadamente, permanecem no campo por mais tempo, até  
25 encontrarem condições adequadas para a germinação.

26 Os bovinos contribuem para o processo de colonização de pastagens, pois se  
27 constituem dispersores efetivos das referidas espécies.

28  
29

## 30 AGRADECIMENTOS

31

32 UENF - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

33 FAPERJ - Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de  
34 Janeiro.



- 1  
2 BLACKSHAW, R.E.; RODE, L.M. Effect of ensiling and rumen digestion by cattle on  
3 weed seed viability. **Weed Science**, Califórnia, v.39, p.104-8, 1991.  
4
- 5 BRAY, S.G.; CAHILL, L.; PATON, C.J.; BAHNISCH, L.; SILCOCK, R. Can cattle  
6 spread giant rats tail grass seed (*Sporobolus pyramidalis*) in their feces? **Proceedings...9th**  
7 **Australian agronomy conference**, Wagga Wagga, Australia, 1998.  
8
- 9 BRUUN, H.H.; POSCHLOD. Why are small seeds dispersed through animal guts: large  
10 numbers or seed size per se? **Oikos**, Lund, v.113, n.3, 402–411, 2006.  
11
- 12 DEMINICIS, B.B.; ALMEIDA, J.C.C.; MALAFAIA, P.A.M.; BLUME, M.C.; ABREU,  
13 J.B.R.; VIEIRA, H.D. Germinação de sementes em placas fecais bovinas, **Archivos de**  
14 **Zootecnia**, Córdoba, v.58, n. 221, p.73-84. 2009.  
15
- 16 FIGUEROA, J.A.; CASTRO, S. A. Effects of bird ingestion on seed germination of four  
17 woody species of the temperate of Chiloe esland. **Plant Ecology**, Oxford, v.160, p.17-23.  
18 2002.  
19
- 20 JONES, R.M., NOGUCHI, M., BUNCH, G.A. Levels of germinable seed in topsoil and  
21 cattle faeces in legume-grass and nitrogen-fertilized pastures in south-east Queensland.  
22 **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Collingwood, v. 42, n. 6, p. 953–  
23 968,2001.  
24
- 25 LEVINE, J.M.; MURREL, D.J. The community-level consequences of seed dispersal  
26 plants. **Annual Review of Ecology Evolution and Systematics**, Palo Alto, v.34: 549-574,  
27 2003.  
28
- 29 LISBOA, C.A.V.; MEDEIROS, R.B.; Eduardo Bohrer de AZEVEDO, E.B.; PATINO,  
30 H.O.; CARLOTTO,S.B.; GARCIA, R.P.A. Poder germinativo de sementes de capim-  
31 *annoni-2 (Eragrostis plana* Ness) recuperadas em fezes de bovinos. **Revista Brasileira de**  
32 **Zootecnia**, Viçosa, v.38, n.3, p.405-410, 2009.  
33

- 1 MOUISSIE, A.M.; VEEN, C.E.J.V.D.; VEEN, G.F.; DIGGELEN, R.V. Ecological  
2 correlates of seeds survival after ingestion by fallow deer. **Function Ecology**, London,  
3 v.19, p.284-290, 2005.  
4
- 5 SILVA, T.O., ALMEIDA, J.C.C., ROCHA, N.S.; COSTA, Z.S.; LIMA, G.P.; GRASSI,  
6 P.H.; FERREIRA, T.C.; ARAÚJO, R.P., ABREU, J.B.R. Dispersão e germinação de  
7 leguminosas forrageiras tropicais através das fezes de bovinos. In: Congresso Internacional  
8 de Zootecnia, 9., 2007, Londrina. **Anais... ZOOTECH**, Londrina, 2007. CD-ROM.  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

1 **Tabela 1. Resultados da porcentagem de sementes intactas, intumescidas,**  
 2 **digeridas, porcentagem de germinação das sementes e porcentagem de sementes**  
 3 **recuperadas em fezes bovinas e germinadas, de macrotiloma, soja perene, cunhã e**  
 4 **estilosantes.**

5

Espécie	Intactas %	Intumescidas %	Digeridas %	PG%	% Recuperadas germinadas
macrotiloma	14,00 Bb	14,50 Bb	71,5 Ab	49,50 b	14,08 b
cunhã	33,75 Aa	23,00 Ba	43,25 Aa	94,25 a	53,49 a
soja perene	15,50 Bb	14,75 Bb	69,75 Ab	50,75 b	15,41 c
estilosantes	0,075 Bc	2,00 Bc	97,92 Ac	36,00 c	0,75 c
CV %	12,62	18,53	5,24	5,85	11,79

6 \* Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna e não diferem entre si pelo teste  
 7 de Tukey (5%)

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

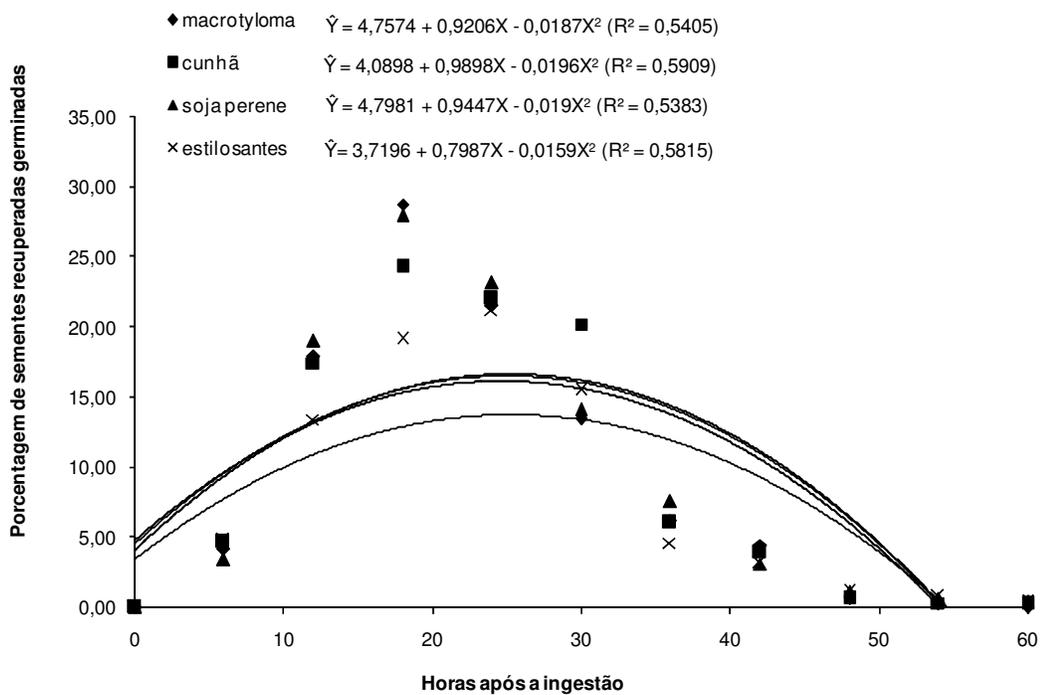
20

21

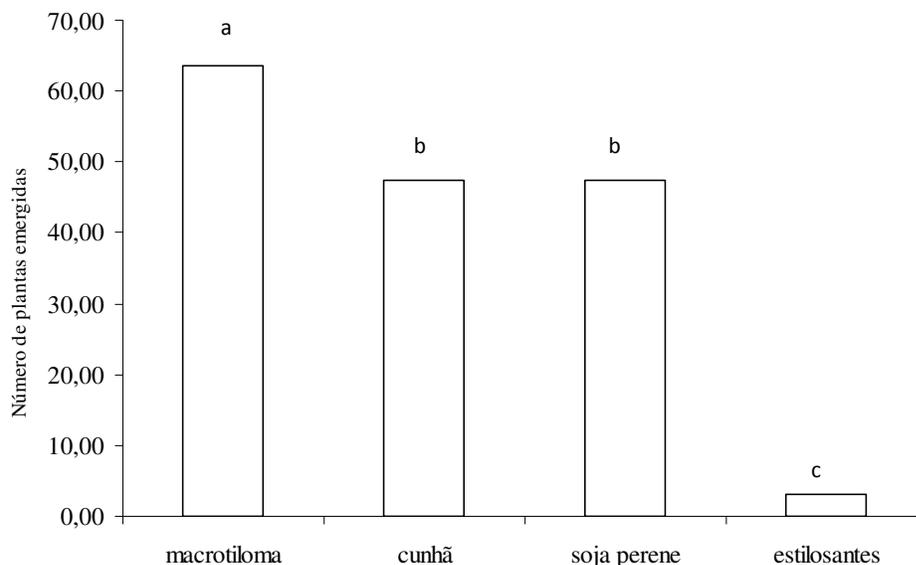


1  
2  
3  
4  
5  
6  
7

**Figura 1. Oferecimento das sementes misturadas com o suplemento mineral aos animais, coleta de fezes, colocação das placas fecais nos vasos em casa de vegetação e observação da presença das plantas germinadas nas placas fecais bovinas.**



8  
9 **Figura 2. Regressão para porcentagem de sementes recuperadas em fezes bovinas**  
10 **em função do período de excreção.**

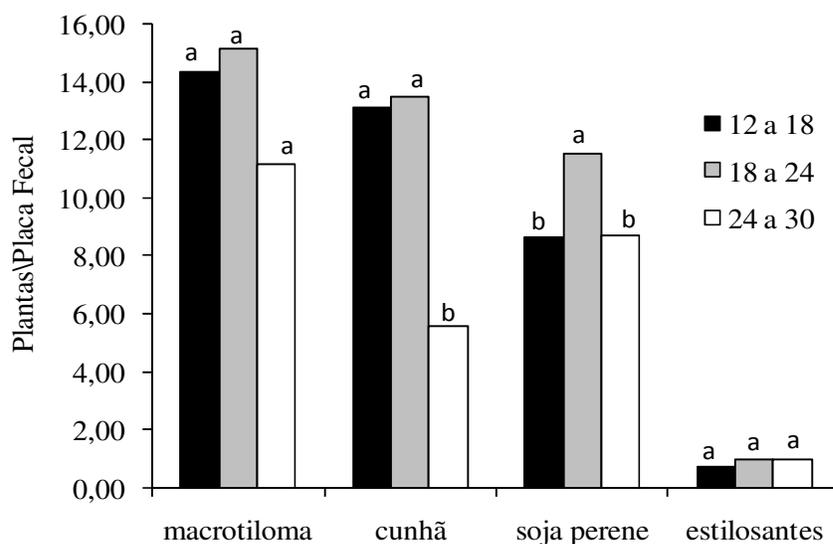


1

2

3 **Figura 3.** Número total de plantas observadas em placas fecais excretadas entre  
 4 **12 e 30 horas pós-ingestão (\* Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas**  
 5 **não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).**

6



7

8 **Figura 4.** Número médio de plantas de leguminosas por placa fecal em função do  
 9 **período pós-ingestão em que foram excretadas (12 e 18, 18 e 24, 24 e 30 horas), em**  
 10 **casa de vegetação. (\* Médias seguidas da mesma letra minúscula nas** não diferem  
 11 **entre si pelo teste de Tukey (5%).**

1       **PRODUÇÃO DE MATÉRIA SECA, COMPOSIÇÃO QUÍMICA E PRODUÇÃO**  
2       **RADICULAR DE LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS SEMEADAS POR**  
3       **FEZES BOVINAS**

4  
5  
6  
7       **Resumo:** O experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar a produção de matéria  
8       seca, composição bromatológica de plantas e produção radicular de plantas de cunhã,  
9       macrotiloma e soja perene que após terem suas sementes passadas pelo trato digestório de  
10      bovinos, germinaram e se desenvolveram em placas fecais bovinas. O delineamento  
11      experimental adotado foi inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 3 (espécies) x  
12      3 (períodos de dispersão) com quatro repetições. Foram oferecidos 50 g de sementes  
13      misturadas a 150 g de suplemento mineral para bovinos por repetição. As fezes bovinas  
14      foram coletadas entre 12 e 30 horas após a ingestão das sementes e foram alocadas em  
15      vasos, onde permaneceram por 120 dias. Ao fim deste período, as plantas presentes nas  
16      fezes foram contadas, cortadas e encaminhadas ao laboratório para determinação da  
17      produção de matéria seca da parte aérea, teor de proteína bruta (PB), fibra em detergente  
18      neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), também foi realizada a extração de todas  
19      as raízes presentes nos vasos. As plantas desenvolvidas nas fezes foram capazes de  
20      expressar boa produção de matéria seca. A passagem de sementes das espécies estudadas  
21      pelo trato digestório dos bovinos não implica necessariamente, na redução ou no aumento  
22      da produtividade de matéria seca pelas plantas. O macrotiloma foi a espécie que apresentou  
23      a maior produção de matéria seca por hectare. Os teores de PB, FDN e FDA não sofreram  
24      alterações dentro dos períodos de dispersão em que as sementes foram cultivadas. A  
25      espécie soja perene apresentou o maior teor de PB e o menor de FDA e valor intermediário  
26      para FDN, desta forma, foi a espécie que apresentou qualidade nutricional superior dentre  
27      as estudadas. As leguminosas estudadas apresentaram diferenças na morfologia, produção  
28      por hectare e distribuição radicular, mas não apresentaram diferenças na produção  
29      individual por planta e na densidade radicular. O macrotiloma foi a espécie que apresentou  
30      a maior produção de matéria seca de raízes dentre as estudadas.

31

32      Termos para indexação: folha, haste, sementes, raízes, macrotiloma, cunhã e soja perene.

33



## INTRODUÇÃO

1  
2  
3 A pecuária brasileira, apesar de esforços com aprimoramento de tecnologias e  
4 recursos investidos, ainda apresenta índices de produtividade baixos. A adoção de sistemas  
5 de pastagens consorciadas entre gramíneas e leguminosas forrageiras é uma alternativa  
6 interessante para incrementar a produtividade animal e esta estratégia tem a finalidade de  
7 integrar a produtividade das gramíneas forrageiras com o alto valor nutricional e a fixação  
8 de nitrogênio que as leguminosas forrageiras atribuem ao sistema (Pádua et al., 2006).

9 Os consórcios de pastagens com leguminosas são importantes porque podem  
10 proporcionar redução do custo de produção, podem minimizar os impactos ambientais da  
11 pecuária, aumentando a sustentabilidade do sistema forrageiro, além de aumentar a  
12 produção e a qualidade da matéria seca ingerida pelos animais (Dias et al., 2006). Uma  
13 grande vantagem da introdução de leguminosas forrageiras na produção de ruminantes é a  
14 incorporação de nitrogênio atmosférico, por meio da simbiose entre bactérias que  
15 colonizam as raízes dessas plantas como o *Rhizobium*, podendo fornecer quantidades  
16 consideráveis de N ao sistema solo-planta-animal (Pereira, 2001). A contribuição pode ser  
17 feita pela transferência indireta do N fixado para a gramínea, o que aumenta a capacidade  
18 de suporte da pastagem e prolonga sua capacidade produtiva, e diretamente, pela melhora  
19 na qualidade da dieta animal, o que se verifica com leguminosas de alta palatabilidade,  
20 refletindo em melhoria de atributos forrageiros, como teor de proteína e maior capacidade  
21 produtiva, o que se traduz por maior capacidade de suporte (Cantarutti et al., 2002).

22 Um dos principais entraves na adoção de pastagens consorciadas entre gramíneas e  
23 leguminosas, onde a primeira já se encontra estabelecida, é o custo de implantação destas  
24 ao sistema de exploração. A utilização de bovinos como agentes dispersores é uma  
25 tecnologia interessante a longo prazo para que esses vegetais possam ser introduzidos em  
26 grandes áreas, pois uma vez estabelecidas as leguminosas tendem a se perpetuarem no  
27 espaço através do tempo (Silva et al., 2007).

28 Outra vantagem das leguminosas é a menor variação estacional no seu valor  
29 nutritivo, em comparação com as gramíneas forrageiras (Jingura et al., 2001). A  
30 persistência das leguminosas forrageiras em pastagens depende, entre outros fatores, da  
31 área de solo explorado pelo sistema radicular e de sua eficiência na absorção de água e de  
32 nutrientes, bem como do conteúdo de reservas orgânicas. A densidade de raízes e dos  
33 teores de reservas orgânicas pode indicar a adaptação da planta forrageira, principalmente  
34 considerando a intensidade, a frequência e a época de desfolha (BURT et al., 1983). As

1 leguminosas de porte herbáceo-subarbusivas possuem raízes que exploram camadas de  
2 solo mais profundas do que as gramíneas, contribuindo para a reciclagem de nutrientes,  
3 para a habilidade competitiva e para a tolerância à seca (CROWDER e CHHEDA, 1982).

4 Baseado nestas informações, este trabalho teve como objetivo avaliar a produção de  
5 matéria seca, o teor de matéria seca, a composição bromatológica e a produção radicular de  
6 plantas de cunhã, macrotiloma e soja perene que, após terem suas sementes passadas pelo  
7 trato digestório de bovinos, germinaram e se desenvolveram em placas fecais bovinas em  
8 casa de vegetação.

9  
10

## 11 MATERIAL E MÉTODOS

12

13 Os experimentos foram conduzidos nas instalações do Setor de Forragicultura e  
14 Nutrição de Ruminantes do Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal, no Setor de  
15 Sementes e na Casa de Vegetação do Laboratório de Fitotecnia, pertencentes ao Centro de  
16 Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense  
17 Darcy Ribeiro (UENF), no município de Campos dos Goytacazes, RJ, entre dezembro de  
18 2007 e abril de 2008.

19 Foram oferecidos 50 g de sementes de cunhã (*Clitoria ternatea*), macrotiloma  
20 (*Macrotyloma axillare*) e soja perene (*Neonotonia wightii*) à bovinos mestiços (Holandês x  
21 zebu), com peso vivo de 500 kg. Isto corresponde a aproximadamente 1.000 sementes de  
22 cunhã, 149.500 de soja perene e 5.000 de macrotiloma, todas *in natura*, cuja umidade se  
23 encontrava em torno de 22,7%; 12,3%; 25,9%; 27,8 respectivamente. O delineamento  
24 experimental adotado foi inteiramente ao acaso, em um esquema fatorial 3 (espécies) x 3  
25 (períodos de dispersão), com quatro repetições.

26 As sementes foram oferecidas, de uma só vez, misturadas em 150 g de mistura  
27 mineral para bovinos, durante a alimentação matinal. A composição da mistura mineral  
28 “completa” para gado de corte foi a seguinte (por kg do produto): Ca = 172,93 g; P = 41,8  
29 g; Na = 157,09 g; Mg = 7,14 g; S = 26,39 g; Fe = 1598,8 mg; F = 418 mg; Co = 80 mg; Cu  
30 = 1250 mg; I = 97,6 mg; Se = 37,5 mg; Zn = 3800 mg; Mn = 764,4 mg e Solubilidade do P  
31 em ác. Cítrico à 2% = 90%. Sendo o teor de sódio da mistura mineral utilizada (15%)  
32 semelhante ao teor encontrado em sal branco para bovinos (16%).

33 Os animais permaneceram em baias individuais de 5 x 5 m, consumindo água à  
34 vontade e submetidos a uma dieta básica de capim-elefante picado e concentrado na

1 proporção de 70:30 com base na matéria seca, balanceados para atingirem a exigência de  
2 manutenção dos animais. O oferecimento do alimento foi realizado às 09:00 e às 15:00 horas.  
3 Sete dias antes do oferecimento das sementes, os animais foram confinados e privados do  
4 oferecimento de suplementação mineral.

5 As fezes dos bovinos foram coletadas totalmente entre 12 e 30 horas após a ingestão  
6 das sementes. As fezes coletadas foram levadas em sacolas plásticas para a casa de  
7 vegetação e dispostas em vasos cilíndricos (altura 15,0 cm, diâmetro superior 32,0 cm,  
8 diâmetro inferior 18,0 cm e volume 7,0 l) com prato (altura 2,0 cm e diâmetro 21,0 cm),  
9 preenchidos com areia lavada, com o objetivo de reproduzir condições de campo, de solo  
10 degradado, onde permaneceram por 120 dias. A areia utilizada foi peneirada em malha de  
11 2 mm, sendo em seguida tratada, durante 36 horas, com ácido clorídrico PA, diluído em  
12 água, numa proporção de 600 mL de ácido para cada 10 L de água, mantendo-se lâmina de  
13 10 cm da solução ácida acima do nível da areia, em baldes de polietileno. Após esse  
14 período, a areia foi lavada com água corrente, até que fosse retirado o excesso de ácido,  
15 alcançando o pH próximo de 7,0 em água deionizada. Durante todos os dias de condução  
16 do experimento as fezes foram irrigadas diariamente com 6 mm de água, equivalendo a 6  
17 litros de água por metro quadrado de área, de acordo com a precipitação média diária local,  
18 no período de verão-outono.

19 Aos 120 dias, as plantas presentes nas placas foram contadas, cortadas “rente ao  
20 colo” e a massa coletada foi acondicionada em sacola plástica identificada, pesada e levada  
21 para secagem em estufa, a 65°C por 72 horas, e moídas em moinho tipo Willey,  
22 acondicionadas em vasilhames plásticos e encaminhadas ao laboratório para análise de  
23 proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA).  
24 O corte foi efetuado nas primeiras horas do dia, logo após a dissipação do orvalho. Todo  
25 este material fresco foi levado para secagem em estufa a 65 °C, por 72 horas, obtendo-se a  
26 massa seca. As análises dos teores de PB foram realizadas pelo método semimicro  
27 Kjeldhal, utilizando-se fator 6,25 para conversão de nitrogênio total em PB, como descrito  
28 por Silva e Queiroz (2002), para a determinação dos teores de FDN e FDA foi utilizado o  
29 método descrito por Van Soest e Robertson (1985).

30 No momento do corte das plantas foi realizada a extração de todas as raízes presentes  
31 nos vasos. Após a extração das raízes, foi realizada a lavagem cuidadosa em água corrente,  
32 com baixa vazão, sobre peneira de malha de 1 mm, para a separação das raízes e solo. Em  
33 seguida, as amostras foram enxugadas com papel toalhas pesadas e secas em estufa à 65°C,  
34 por 48 horas, para estimativa da MS e de raízes (BORDIN, 2008).

1 Os resultados foram submetidos a análise da variância tendo sido utilizado o teste de  
2 Tukey, a 5% de significância para a comparação das médias, utilizando o programa  
3 SISVAR.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 8 *Produção e teor de matéria seca da parte aérea*

9  
10 Pela análise da variância foi observada diferença significativa ( $P>0,05$ ) apenas para  
11 o teor de matéria seca e produção de matéria seca em toneladas por hectare entre as  
12 leguminosas, considerando a produção acumulada de 120 dias de crescimento (Tabela 1).  
13 A espécie que apresentou maior teor de umidade em seu material forrageiro foi o  
14 macrotiloma (82,1%), semelhante a soja perene (81,5%).

15 Quanto à produção de matéria seca em gramas por planta, as espécies não  
16 apresentaram diferença entre si, em média as plantas produziram 2,54 g de MS, contudo,  
17 quando se avaliou a estimativa de produção de MS por hectare (ajustada em função da  
18 produção MS das parcelas experimentais), o macrotiloma apresentou valores  
19 significativamente maiores que as demais espécies testadas. A estimativa de produção de  
20 cerca de 6 toneladas por ha é bastante expressiva, considerando as condições do substrato  
21 utilizado (areia lavada, pH 7,0). Os resultados de produção de matéria seca obtidos neste  
22 estudo são similares aos encontrados por Pádua et al. (2006), com certa ressalva, pois os  
23 valores observados foram ajustados em função das parcelas experimentais. Estes autores  
24 trabalharam com macrotiloma e soja perene, e verificaram produções de 6,0 t/ha e 4,6 t/ha  
25 aos noventa dias de crescimento, para as duas espécies respectivamente.

26 As espécies soja perene e cunhã não diferiram entre si no tocante a estimativa de  
27 produção de matéria seca por hectare, a soja apresentou 4,28 t/ha enquanto a cunhã  
28 apresentou 4,24 t/ha. Teixeira (2008), avaliando a cunhã observou produtividade de 13,20  
29 t/ha de MS em 120 dias, mostrando que podem ser alcançadas produtividades elevadas de  
30 MS com a cunhã quando o plantio é realizado por mudas e é realizada a calagem. Estes  
31 resultados mostram que a produção de MS em gramas por planta não difere entre as  
32 espécies, todavia a produção de MS por hectare não segue mesmo padrão, logicamente  
33 pode-se perceber que a influência da quantidade de sementes dispersa pelos bovinos, que  
34 se desenvolvem nas fezes, faz toda diferença na obtenção destes resultados, nos sugerindo

1 a hipótese de que a maior quantidade de sementes dispersa por placa fecal proporciona  
2 maiores produtividades de MS, que possivelmente, poderão ser incrementadas à pastagem  
3 na qual a tecnologia está sendo adotada.

4  
5

### 6 ***Composição bromatológica***

7

8 Na Tabela 2, são apresentadas as médias para os teores de PB, FDN e FDA das  
9 espécies estudadas. A análise de variância dos teores de PB, FDN e FDA indicou  
10 significância apenas para diferença entre espécies, não sendo observadas diferenças entre  
11 as plantas das respectivas espécies em diferentes períodos em que foram excretadas. O  
12 maior teor de PB foi encontrado na soja perene (16,0%), não sendo observada diferença  
13 entre cunhã (13,6) e macrotiloma (13,1). Em relação ao teor de FDN, foi observado que a  
14 cunhã (66,8%) apresentou o maior valor, seguido da soja perene (63,4%) e, por último, o  
15 macrotiloma (55,0%). Para o teor de FDA foi verificado maior valor para cunhã (53,8%),  
16 seguido do macrotiloma (40,5%) e, por último, a soja perene (39,4%). Barros et al. (2004),  
17 trabalhando com cunha, verificaram os seguintes teores: 17,2% de PB e 55,1% de FDN.  
18 Pádua et al. (2006), trabalhando com três leguminosas forrageiras, dentre elas a soja perene  
19 e o macrotiloma, observaram, respectivamente, teores de PB de 16,5 e 15,4%, teores de  
20 FDN de 60,3 e 50,4 e teores de FDA de 40,6 e 39,4%.

21  
22

### 23 ***Produção Radicular***

24

25 Pela análise da variância foi observada diferença significativa ( $p>0,05$ ), entre as  
26 leguminosas, apenas, para o teor de matéria seca das raízes e produção de matéria seca em  
27 toneladas de raízes por hectare, considerando a produção aos 120 dias de crescimento  
28 (Tabela 3).

29 Em média, cada planta amostrada acumulou 2,02 gramas de biomassa em suas  
30 raízes, o que equivale a 3,85 toneladas por hectare. Destes, a maior parte representavam  
31 raízes finas, exceto no caso da espécie soja perene, que apresentou raiz pivotante bastante  
32 espessa. Goins e Russele (1996) enfatizaram que a arquitetura radicular das plantas parece  
33 influenciar a absorção de nutrientes e a eficiência no uso da água, assim como afetar a  
34 partição de assimilados entre a parte aérea e as raízes.

1           A espécie que apresentou maior teor de matéria seca em suas raízes foi a cunhã  
2 (28,0%), seguida pela soja perene (26,0%). Dados morfológicos referentes às fases das  
3 plantas são tão importantes quanto escassos na literatura e, considerando-se o grande  
4 número de espécies de leguminosas, fica evidente a necessidade estudos neste sentido  
5 (Oliveira, 2001). A espécie que apresentou maior produção de matéria seca de raízes por  
6 hectare foi o macrotiloma (em média 4,9 t/ha). Em relação a densidade de raízes não foi  
7 observada diferença entre as espécies, sendo verificada em média 0,29 gramas de matéria  
8 seca de raiz por decímetro cúbico. Scaranari e Inforzato (1952), estudando algumas  
9 espécies de leguminosas, verificaram que a produção radicular e a profundidade atingida  
10 pelas raízes está relacionada com o desenvolvimento da parte aérea das plantas. Além  
11 disso, verificaram que é pequena a quantidade de matéria orgânica deixada no solo pelas  
12 raízes, quando comparada com a que é produzida pela parte aérea, mas que sua ação é  
13 extremamente importante, pois proporcionam apreciável melhora das propriedades físicas  
14 do solo.

15

16

17

## CONCLUSÕES

18

19           Os bovinos constituem-se em facilitadores na dispersão de cunhã, macrotiloma e  
20 soja perene, pois as sementes dispersas por eles têm plena condição de expressar seu  
21 potencial em termos qualitativos da forragem produzida.

22           A espécie macrotiloma apresentou a maior produção de matéria seca, porque teve  
23 maior número de sementes que germinaram e se desenvolveram nas fezes bovinas.

24           As plantas desenvolvidas nas fezes foram capazes de expressar boa produção de  
25 matéria seca. A passagem de sementes pelo trato digestório dos bovinos não implica  
26 necessariamente na redução ou aumento da produtividade se matéria seca pelas plantas.

27           Os teores de PB, FDN e FDA não sofreram alterações dentro dos períodos de  
28 dispersão em que as sementes foram cultivadas.

29           A espécie soja perene apresentou o maior teor de PB e o menor de FDA e valor  
30 intermediário para FDN, desta forma, foi a espécie que apresentou qualidade nutricional  
31 superior dentre as estudadas.

32           O macrotiloma foi a espécie que apresentou a maior produção de matéria seca de  
33 raízes dentre as estudadas.

34

## AGRADECIMENTOS

1  
2  
3 UENF - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.  
4 FAPERJ - Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de  
5 Janeiro.  
6 CNPq – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior  
7 CAPES - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico  
8 UFRRJ - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.  
9 UFC - Universidade Federal do Ceará.  
10 EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.  
11 PESAGRO-RIO - Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro  
12 UNIOESTE – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
13  
14

## REFERÊNCIAS

- 15  
16  
17 BARROS, N.N.; ROSSETTI, A.G.; CARVALHO, R.B. Feno de cunhã (*Clitoria ternatea*  
18 L.) para acabamento de cordeiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.2, p.499-504, 2004.  
19  
20 BORDIN, I.; NEVES, C.S.V.J.; MEDINA, C.C.; SANTOS, J.C.F.; TORRES, E.;  
21 URQUIAGA, S. Matéria seca, carbono e nitrogênio de raízes de soja e milho em plantio  
22 direto e convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.12, p.1785-  
23 1792, 2008.  
24  
25 BURT, R.L.; CAMERON, D.G.; CAMERON, D.F. *Stylosanthes*. In: BURT, R.L.;  
26 ROTAR, P.P.; WALKER, J.L. et al. **The role of *centrosema*, *desmodium*, and**  
27 ***stylosanthes* in improving tropical pastures**. Boulder: Westview Press, p. 141-181, 1983.  
28  
29 CANTARUTTI, R.B.; TARRÉ, R.M.; MACEDO, R.; CADISCH, G.; RESENDE, C.P.;  
30 PEREIRA, J.M.; BRAGA, J.M.; GOMEDE, J.A.; FERREIRA, E.; ALVES, B.J.R.;  
31 URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. The effect of grazing intensity and the presence of a  
32 forage legume on nitrogen dynamics in *Brachiaria* pastures in the Atlantic forest region of  
33 the South of Bahia, Brazil. **Nutrient Cycling in Agroecosystem**, New York, v.64, p.257-  
34 271, 2002.

- 1  
2 CROWDER, L.V.; CHHEDA, H.R. **Tropical Grassland Husbandry**. New York:  
3 Longman, 1982. 562p.  
4  
5 DIAS, P.F.; SOUTO, S.M.; FRANCO, A.A Leguminosas arbóreas introduzidas em  
6 pastagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.1, p.119-126, 2007.  
7  
8 GOINS, G.D.; RUSSELE, M.P. Fine root demography in alfalfa (*Medicago sativa* L.).  
9 **Plant and Soil**, Dordrecht, v.185, p.281-291, 1996.  
10  
11 JINGURA, R.M.; SIBANDA, S.; HAMUDIKUWANDA, H. Yield and nutritive value of  
12 tropical forage legumes grown in semi-arid parts of Zimbabwe. **Tropical Grassland**, St  
13 Lucia, v.35, p.168-174, 2001.  
14  
15 OLIVEIRA, D.M.T. Morfologia comparada de plântulas e plantas jovens de leguminosas  
16 arbóreas nativas: espécies de Phaseoleae, Sophoreae, Swartzieae e Tephrosieae. **Revista**  
17 **Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.24, n.1, p.85-97, 2001.  
18  
19 PÁDUA, F.T.; ALMEIDA, J.C.C.; SILVA, T.O.; ROCHA, N.S.; NEPOMUCENO, D.D.  
20 Produção de matéria seca e composição químico-bromatológica do feno de três  
21 leguminosas forrageiras tropicais em dois sistemas de cultivo. **Ciência Rural**, Santa Maria,  
22 v.36, n.4, p.1253-1257, 2006.  
23  
24 PEREIRA, J.M. Produção e persistência de leguminosas em pastagens tropicais. In:  
25 SIMPÓSIO SOBRE FORRAGICULTURA: TEMAS EM EVIDÊNCIA, 2., 2001. Lavras,  
26 Brasil. **Anais...** Lavras, 2001. p. 111-142.  
27  
28 SCARANARI, H.J.; INFORZATO, R. Sistema radicular das principais leguminosas  
29 empregadas como adubo verde em cafezal. **Bragantia**, Campinas, v.2, p.291-297, 1952.  
30  
31 SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos** (métodos químicos e biológicos).  
32 2.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.  
33

- 1 SILVA, T.O., ALMEIDA, J.C.C., ROCHA, N.S.; COSTA, Z.S.; LIMA, G.P.; GRASSI,  
2 P.H.; FERREIRA, T.C.; ARAÚJO, R.P., ABREU, J.B.R. Dispersão e germinação de  
3 leguminosas forrageiras tropicais através das fezes de bovinos. In: Congresso Internacional  
4 de Zootecnia, 9., 2007, Londrina. **Anais... ZOOTEC**, Londrina, 2007. CD-ROM.  
5
- 6 **TEIXEIRA, V.I. Aspectos agronômicos e bromatológicos de leguminosas forrageiras**  
7 **na Zona da Mata Seca de Pernambuco.** Recife, PE: Universidade Federal Rural de  
8 Pernambuco, 2008. 53p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal  
9 Rural de Pernambuco, 2008.  
10
- 11 **VAN SOEST, P.J., ROBERTSON, J.B. Analysis of forage and fibrous foods.** Lab  
12 Manual for Animal Science, 613. Dept. Animal Sci. Cornell University, Ithaca, NY. 1985.  
13 202p.  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

1 **Tabela 1. Teor de matéria seca (MS%) e produção média de matéria seca por planta**  
 2 **em gramas/planta (PMS g/planta) de três leguminosas forrageiras tropicais.**

3

<b>MS%</b>			
Período/Espécie	macrotiloma	soja perene	cunhã
Entre 12 e 18 horas	17,33	18,10	29,95
Entre 18 e 24 horas	17,98	18,73	29,17
Entre 24 e 30 horas	18,31	18,63	29,57
Média	17,87 b	18,49 b	29,57 a
CV%	4,55	5,67	12,00
<b>PMS g/planta</b>			
Período/espécie	macrotiloma	soja perene	cunhã
Entre 12 e 18 horas	2,88	2,36	2,93
Entre 18 e 24 horas	2,32	2,27	1,65
Entre 24 e 30 horas	1,88	3,82	2,79
Média	2,36 a	2,81 a	2,46 a
CV%	27,01	65,63	43,37

4 \*\* Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%)

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

1 **Tabela 2. Teor de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra**  
 2 **em detergente ácido (FDA) de três leguminosas forrageiras tropicais, germinadas e**  
 3 **desenvolvidas em fezes bovinas.**

<b>PB %</b>			
Período/espécie	macrotiloma	soja perene	cunhã
Entre 12 e 18 horas	13,00	15,84	13,44
Entre 18 e 24 horas	13,14	15,85	13,46
Entre 24 e 30 horas	13,17	16,38	13,87
Média	13,10 b	16,02 a	13,59 b
CV%	14,37	4,99	13,98
<b>FDN</b>			
Período/espécie	macrotiloma	soja perene	cunhã
Entre 12 e 18 horas	53,79	60,44	67,04
Entre 18 e 24 horas	53,13	64,56	65,06
Entre 24 e 30 horas	58,02	65,17	68,44
Média	54,98 c	63,39 b	66,84 a
CV%	4,57	3,87	4,10
<b>FDA</b>			
Período/espécie	macrotiloma	soja perene	cunhã
Entre 12 e 18 horas	39,20	41,25	53,25
Entre 18 e 24 horas	38,74	38,34	54,29
Entre 24 e 30 horas	43,64	38,61	53,90
Média	40,52 b	39,40 b	53,81 a
CV%	7,31	5,63	3,09

5 \*Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de  
 6 probabilidade (P<0,05).

7  
 8  
 9  
 10  
 11

1 **Tabela 3. Teor de matéria seca (MS%) das raízes, produção média de matéria**  
 2 **seca por planta (PMS g/planta) e densidade média de raízes por planta (gMS/dm<sup>3</sup>) de**  
 3 **três leguminosas forrageiras tropicais.**

4

<b>Teor MS%</b>			
Período/espécie	macrotiloma	soja perene	cunhã
Entre 12 e 18 horas	20,09	25,85	28,17
Entre 18 e 24 horas	20,14	25,97	28,14
Entre 24 e 30 horas	19,92	26,21	27,68
Média	20,05 c	26,01 b	28,00 a
CV%	1,44	1,43	2,36
<b>PMS (g/planta)</b>			
Período/espécie	macrotiloma	soja perene	cunhã
Entre 12 e 18 horas	2,39	1,74	2,52
Entre 18 e 24 horas	1,94	1,68	1,39
Entre 24 e 30 horas	1,62	2,73	2,16
Média	1,99 a	2,05 a	2,03 a
CV%	29,89	70,04	49,14
<b>Densidade de raízes (gMS/dm<sup>3</sup>)</b>			
Período/espécie	macrotiloma	soja perene	cunhã
Entre 12 e 18 horas	0,34	0,25	0,36
Entre 18 e 24 horas	0,28	0,24	0,20
Entre 24 e 30 horas	0,23	0,39	0,31
Média	0,28 a	0,29 a	0,29 a
CV%	30,90	70,28	49,09

5 \*\*Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%)

#### 4. RESUMO E CONCLUSÕES

O objetivo desse trabalho foi desenvolver tecnologia de baixo custo para enriquecimento e/ou recuperação de pastagens com a introdução e dispersão de leguminosas pelas fezes bovinas. Pretendeu-se, portanto, avaliar o potencial fisiológico das sementes antes e após sofrerem possíveis danos causados pelo estresse salino, proporcionado pela permanência de sementes em mistura mineral para bovinos, pela mastigação, pela passagem pelo trato digestório e pela permanência nas fezes, utilizando-se para isso testes de germinação, teste de vigor e observação da germinação de plântulas nas placas fecais, bem como da avaliação da produção de matéria seca, composição bromatológica, produção radicular das plantas que se desenvolveram nas placas fecais num período de 120 dias de crescimento.

No primeiro experimento, sementes de cunhã foram submetidas aos métodos de pré-condicionamento: a) escarificação manual com lixa e imersão em água por 14 horas a 25°C e b) imersão em água a temperatura de 95°C com manutenção das sementes na mesma água por 24 horas a 25°C. Após o pré-condicionamento, os tegumentos das sementes foram retirados e as sementes imersas em soluções de tetrazólio a 0,1, 0,3 e 1% por 2 horas e 30 minutos a 25°C. Para comparação dos resultados obtidos no teste de tetrazólio, foram realizados os testes de germinação, primeira contagem e índice de velocidade de germinação. O método utilizando escarificação manual com lixa e posterior embebição em água por 14 horas, a 25°C apresentou maior eficiência no pré-condicionamento de sementes de cunhã e a imersão das mesmas em solução de

tetrazólio a 0,3% por 2 horas e 30 minutos, a 25°C, permitiu avaliar a qualidade de sementes dessa espécie.

No segundo experimento foi avaliado o potencial fisiológico de sementes de cunhã, estilosantes, macrotiloma e soja perene submetidas à permanência em mistura mineral para bovinos, pelo teste de germinação, pelo teste de envelhecimento acelerado e pelo teste de condutividade elétrica. As sementes permaneceram na mistura mineral por: 0, 12, 24, 36, 48, 72 e 96 horas. O estresse salino, até 24 horas, não representou risco para a germinação das sementes.

O terceiro experimento verificou o efeito da mastigação simulada em laboratório, com uma barra metálica, sobre a sobrevivência de sementes e a sobrevivência de sementes de cunhã, estilosantes, macrotiloma e soja perene submetidas a diferentes períodos de digestão ácido-enzimática “*in vitro*”. Para isso, foram conduzidos três ensaios. O primeiro ensaio foi realizado para observar o percentual de sementes destruídas pela “mastigação” e o segundo foi para comparar o comportamento germinativo das sementes das espécies utilizadas após “mastigação”, escarificação com lixa, “mastigação” com posterior escarificação com lixa e sementes intactas (controle). E, no terceiro ensaio, as sementes foram incubadas a 39° C com ácido clorídrico mais pepsina por: 0, 2, 4, 8, 12 e 24 horas. Os resultados permitiram observar, que as sementes de leguminosas, por possuírem tegumentos duros e impermeáveis, quando submetidas a mastigação e à digestão ácido-enzimática, possuem alto potencial de resistência, e, desta forma, maiores são suas chances de passar intactas pelo trato digestório dos bovinos, sendo capazes de germinar quando defecadas nas pastagens. Contudo, o estilosantes não deve ser inserido na alimentação de bovinos com este fim, pois não resiste à digestão ácido-enzimática.

O quarto experimento avaliou a sobrevivência de sementes de cunhã, estilosantes, soja perene e macrotiloma submetidas ao ensaio de fermentação *in vitro* e ao ensaio *in situ*. No ensaio *in vitro*, foi colocado o equivalente a 50 sementes de apenas uma espécie em cada erlenmeyer de 250 mL, por repetição. No ensaio *in situ*, foi colocado o equivalente a 50 sementes de apenas uma espécie por saquinho de náilon por repetição, de tamanho 10x15 cm e foram utilizadas vacas fistuladas. Os tempos de fermentação foram: 6, 12, 24, 48, 96 e 144 horas, e o tempo zero foi realizado no laboratório. Foram determinadas as

porcentagens de germinação de cada espécie em cada tempo de fermentação. Os resultados permitiram observar que as sementes de leguminosas, por possuírem tegumentos duros e impermeáveis, quando submetidas à fermentação *in vitro* e à digestão ruminal *in situ*, apresentam alto potencial de resistência, e, desta forma, maiores são suas chances de passar pelo trato digestório dos bovinos, sendo capazes de germinar quando defecadas nas pastagens. Contudo, o estilosantes não deve ser inserido na alimentação de bovinos com este propósito, pois não resiste à fermentação ruminal.

No quinto experimento, foi avaliada a recuperação e sobrevivência de sementes submetidas ao trato digestório de bovinos e avaliar a germinação destas sementes em placas fecais de bovinos em casa de vegetação, com intuito de constatar a possibilidade de introduzi-las em uma pastagem já estabelecida, visando melhorar o desempenho das pastagens e, conseqüentemente, incrementar a produtividade animal por área sem que haja custo elevado, principalmente quanto à implantação desta tecnologia para o pecuarista. Para avaliar a recuperação das sementes, foi realizado ensaio com delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições, sendo analisada a recuperação e germinação de sementes em função do período de excreção. Para estudar a germinação das sementes nas placas fecais, foi realizado um experimento para analisar a presença de plantas nas placas fecais em função do período de excreção. Em ambos ensaios, foi oferecida, aos animais, a quantidade de 50 g de sementes misturadas a 150 g de suplemento mineral para bovinos por repetição. No ensaio de recuperação, foram utilizadas as espécies cunhã, estilosantes, soja perene e macrotiloma e as fezes bovinas foram coletadas até 60 horas após a ingestão das sementes, de onde as sementes foram separadas através de tamises, e, posteriormente, foram contadas e divididas em sementes intactas e intumescidas. Para o teste de germinação das sementes recuperadas, foram utilizadas 75 sementes por repetição (25 in natura, 25 intactas e 25 sementes intumescidas). No ensaio de germinação nas placas fecais, foram utilizadas as espécies cunhã, soja perene e macrotiloma, onde as fezes bovinas foram coletadas entre 12 e 30 horas após a ingestão das sementes, no qual aos 120 dias, foram avaliadas a quantidade total de plantas germinadas dentro do período estudado (entre 12 e 30 horas), bem como o número médio de plantas germinadas por placas fecal. A partir dos resultados obtidos pode-se

concluir que: os bovinos constituem facilitadores na dispersão de cunhã, macrotiloma e soja perene, mas não de estilosantes. E o melhor desempenho quanto ao número médio de plantas germinadas nas placas fecais foi alcançado pela espécie macrotiloma, sendo seguido pelas espécies cunhã e soja perene.

No sexto e último experimento foram avaliadas a produção de matéria seca, a composição bromatológica e a produção radicular de plantas de cunhã, macrotiloma e soja perene, que após terem suas sementes passadas pelo trato digestório de bovinos, germinaram e se desenvolveram em placas fecais bovinas. Foram oferecidos 50 g de sementes misturadas a 150 g de suplemento mineral para bovinos por repetição. As fezes bovinas foram coletadas entre 12 e 30 horas após a ingestão das sementes e foram alocadas em vasos onde permaneceram por 120 dias. Ao fim deste período, as plantas presentes nas fezes foram contadas, cortadas e encaminhadas ao laboratório para determinação do teor, da produção de matéria seca da parte aérea, teor de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA); também foi realizada a extração de todas as raízes presentes nos vasos. As plantas desenvolvidas nas fezes foram capazes de expressar boa produção de matéria seca. A passagem de sementes das espécies estudadas pelo trato digestório dos bovinos não implica necessariamente, na redução ou aumento da produtividade de matéria seca pelas plantas. O macrotiloma foi a espécie que apresentou a maior produção de matéria seca por hectare. Os teores de PB, FDN e FDA não sofreram alterações dentro dos períodos de dispersão em que as sementes foram cultivadas. A espécie soja perene apresentou o maior teor de PB e o menor de FDA e valor intermediário para FDN, desta forma, foi a espécie que apresentou qualidade nutricional superior dentre as estudadas. As leguminosas estudadas apresentaram diferenças na morfologia, na produção por hectare e na distribuição radicular, mas não apresentaram diferenças na produção individual por planta e na densidade radicular. O macrotiloma foi a espécie que apresentou a maior produção de matéria seca de raízes entre as estudadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afonso, E.; Pott, A. (2001) *Plantas no Pantanal tóxicas para bovinos*. 1.ed. Brasília: Embrapa, Informação Tecnológica; Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 51p.
- Aita, C.; Basso, C.J.; Ceretta, C.A.; Gonçalves, C.N.; Daros, C.O. (2001). Plantas de cobertura de solo como fonte de nitrogênio ao milho. *Rev. Bras.Ciênc. Solo*, 25: p.157-165.
- Alcântara, P.B.; Bufarah, G. (1988). *Plantas Forrageiras - Gramíneas e Leguminosas*. São Paulo:. Nobel, 162p.
- Allakhverdiev, S.I.; Sakamoto, A.; Nishiyama, Y.; Inaba, M.; Murata, N. (2000). Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of photosystems I and II in *Synechococcus* sp. *Plant Physiology*, 123: 1047–1056.
- Almeida, A.P. (2007). *Manejo de pastagens*. Viçosa, MG, CPT, 380p.
- Alves, A.F.; Aves, A.F.; Guerra, M.E.C.; Medeiros Filho, S. (2007). Superação de dormência de sementes de braúna (*Schinopsis brasiliense* Engl.). *Revista Ciência Agronômica*, Fortaleza, 38(1): 74-77.
- Andrade, L.A.; Pegado, C.A.; Félix, L.P.; Pereira, I.M. (2006). Efeitos da invasão biológica de algaroba - *Prosopis juliflora* (Sw)DC. sobre a composição e a

- estrutura do estrato arbustivo-arbóreo da caatinga no Município de Monteiro, PB. *Acta Botanica Brasilica*, 20: 887-898.
- Añez, L.M.M.; Coelho, M.F.B.; Albuquerque, M.C.F.E.; Dombroski, J.L.D.; Mendonca, E.A.F. (2007). Padronização da metodologia do teste de tetrazólio para sementes de *Jatropha elliptica* M. Arg. (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 9: 82-88.
- AOSA - Association of Official Seed Analysts. (1983). *Seed vigor testing handbook*. East Lansing,. 93p. (Contribution, 32).
- Aragão, W.M.; Almeida, S.A.; Sobral, L.F. (1984). *Introdução e avaliação de gramíneas e leguminosas forrageiras na Zona Oeste*, Sergipe. Aracaju, EMBRAPA, UEPAE. 5p. (Pesquisa em Andamento, 28).
- Araújo Filho, J.A.; Gadelha, J.A.; Silva, N.L.; Leite, E.R.; Araújo, M.R.A. (1996). Consorciação do Capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum) e da cunhã (*Clitorea ternatea* L.) sob quatro intervalos de corte. *Pasturas tropicales*, 18(1): 47-50.
- Aroeira, L.J.M.; Paciullo, D.S.C.; Lopes, F.C.F.; Morenz, M.J.F.; Simões Saliba, E.S.; Silva, J.J.; Ducatti, C. (2005). Disponibilidade, composição bromatológica e consumo de matéria seca em pastagem consorciada de *Brachiaria decumbens* com *Stylosanthes guianensis*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40: 413-418.
- Augusto, L.G.S., Branco, A. (2003) Política de informação em saúde ambiental. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, São Paulo, 6 (2): 150-157.
- Ávila, P.F.V.; Villela, F. A.; Ávila, M.V. (2006). Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico de sementes de rabanete. *Revista Brasileira de Sementes*, 28 (3): 52-58.

- Avillez, F., Jorge, M.N., Trindade, C.P. et al. (2004) *Rendimento e competitividade agrícolas em Portugal. Evolução recente, situação actual e perspectivas futuras*. 1.ed. Coimbra: Livraria Almedina, 359p.
- Azevedo, A.R. (1983). *Estudio Del valor nutritivo del heno de cunhã (Clitoria ternatea L.) em quatro períodos de recolección*. Tesis (Doutorado em Agronomía). Universiade Politecnica de Madrid – España, Madrid, 241p.
- Azevedo, A.R.; Bastos, F.J.S.; Azevedo Junior, A.R.; Castro, A.B. (1996). Digestibilidade da matéria orgânica do feno de cunhã (*Clitoria Ternatea* L.) em quatro períodos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., *Anais...* FORTALEZA, 03: 460-462.
- Baggio A.J. (1983). *Sinopse de algumas vantagens e desvantagens dos sistemas silvopastoris com Pinus sp*. Curitiba: EMBRAPA-URPFCS, 12p.
- Barbedo, C.J.; Cicero, S.M. (1998). Utilização do teste de condutividade elétrica para previsão do potencial germinativo de sementes de ingá. *Scientia Agricola*, 55(2): 249-259.
- Barcelos, A.O.; Vilela, L. (1994). Leguminosas forrageiras tropicais: estado da arte e perspectivas futuras. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE FORRAGICULTURA, REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 31, *Anais...* Maringá-PR: EDUEM/SBZ, p. 1-56.
- Barros, D.I. (2002). *Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de abóbora e abobrinha*. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 62f.
- Barros, N.N.; Rossetti, A.G.; Carvalho, R.B. (2004). Feno de cunhã (*Clitoria ternatea* L.) para acabamento de cordeiros. *Ciência Rural*, 34 (2): 499-504.
- Barros, P.M. (2000). *Modelo de planejamento para implementação e desenvolvimento do ecoturismo: diagnóstico ecoturístico*. Dissertação (Mestrado

em Engenharia de Produção e Sistemas) - Florianópolis – SC, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC. 191p.

Baskin, C.C.; Baskin, J.M. (1996). Role of temperature and light in the germination ecology of buried seeds of weedy species of disturbed forests. II. *Erechtites hieracifolia*. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, 74 (2): 2002-2005.

Bello, C.V. (1998). *Uma proposta para o desenvolvimento sustentável, com enfoque na qualidade ambiental voltada ao setor industrial*. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção e Sistemas) - Florianópolis – SC, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC. 117p.

Benedetti, E.; Ministério, E.F.; Colmanetti, A.L. (1999). Incremento na disponibilidade de matéria seca em pastagens de *Brachiaria decumbens* consorciadas com leguminosas no cerrado brasileiro. *Vet. Not.*, 5 (1): 97-102.

Bewley, J.D. (1997). Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*, 9(3): 1055-1056.

Bewley, J.D.; Black, M. (1994). *Seed physiology of development and germination*. 2.ed. New York: Plenum Press, 445p.

Bhering, M.C.; Dias, D.C.F.S.; Barros, D.I. (2005). Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. *Revista Brasileira de Sementes*, 27 (1): 176-182,

Bhéring, M.C.; Silva, R.F.; Alvarenga, E.M.; Dias, D.C.F.S.; Pena, M.F. (1996). *Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de feijão-de-vagem (Phaseolus vulgaris L.) pelo teste de tetrazólio*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 27p.

Blackshaw, R.E.; Rode, L.M. (1991). Effect of ensiling and rumen digestion by cattle on weed seed viability. *Weed Science*. 39: 104-108.

- Blume, R.R. (1984) Parasites of Diptera associated with bovine droppings on a pasture in east central Texas. *Southw. Entomol*, 11(3): 215-22.
- Bonn, S. (2004) *Dispersal of plants in the Central European landscape – dispersal processes and assessment of dispersal potential exemplified for endozoochory*. Dissertation (Doktorgrades der Naturwissenschaften). Stuttgart - Germany, Universität Regensburg, 156p.
- Borges do Valle, C. (2002). Recursos genéticos de forrageiras para áreas tropicais. In: I CONFERÊNCIA VIRTUAL GLOBAL SOBRE PRODUÇÃO ORGÂNICA DE BOVINOS DE CORTE, 1, 2002, Anais...Concordia, Embrapa Pantanal e University of Contestado, p.1-15.
- Brasil (1992). Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV., 365p.
- Bråthen, K.M.; González, V.T.; Iversen, M.; Killengreen, S.; Ravolainen, V.T.; IMS, R.A.; AND Yoccoz, N.G. (2007). Endozoochory varies with ecological scale and context. *Ecography*. 30 (2): 308–320.
- Bray, S.G.; Cahill, L.; Paton, C.J.; Bahnisch, L.; Silcock, R. (1998) Can cattle spread giant rats tail grass seed (*Sporobolus pyramidalis*) in their feces? *Proceedings...9<sup>th</sup> Australian agronomy conference, Wagga Wagga, Australia*.
- Bruun ,H.H; Poschlod. (2006). Why are small seeds dispersed through animal guts: large numbers or seed size per se? *Oikos*, 11 (3): 402–411.
- Burt, R.L.; Cameron, D.G.; Cameron, D.F. (1983). *Stylosanthes*. In: BURT, R.L.; ROTAR, P.P.; WALKER, J.L. et al. *The role of centrosema, desmodium, and stylosanthes in improving tropical pastures*. Boulder: Westview Press, p. 141-181.
- Burton, G.W.; Andrews, J.S. (1948) Recovery and viability of seeds of certain southern grasses and lespedeza passed through the bovine digestive tract. *Jour. Agr. Res*, 76: 95-103.

- Campos, I.S.; Assunção, M.V. (1990). Efeito do cloreto de sódio na germinação e vigor de plântulas de arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 25(6): 837-843.
- Campos, M.; Ojeda, M. (1997). Dispersal and germination of *Prosopis flexuosa* (Fabaceae) seeds by desert mammals in Argentina. *J. Arid Environ.* 35: 707-714.
- Cantarutti, R.B.; Tarré, R.M.; Macedo, R.; Cadisch, G.; Resende, C.P.; Pereira, J.M.; Braga, J.M.; Gomede, J.A.; Ferreira, E.; Alves, B.J.R.; Urquiaga, S.; Boddey, R.M. (2002). The effect of grazing intensity and the presence of a forage legume on nitrogen dynamics in *Brachiaria* pastures in the Atlantic forest region of the South of Bahia, Brazil. *Nutrient Cycling in Agroecosystem*, 64: 257-271.
- Cantlife, D.J.; Nascimento, W.M.; Sung, Y.; Huber, D.J. (1999). Lettuce endosperm weakening: a role for endo- $\beta$ -mannanase in seed germination at high temperature. In Black, M.; Bradford, K.; Vázquez-Ramos, J. (ed.). *Seed biology: advances and applications*. New York, CABI Publishing. P277-285.
- Carmona, R.; Ferguson, J.E.; Maia, M.S. (1986). Germinação de sementes em *Stylosanthes macrocephala* M.B. Ferr.et Sousa Costa E S. *capitata* vog. in *linnaea*. *Revista Brasileira de Sementes*, 8 (3): 19-27.
- Carvalho, L.M.L.; Thyssen, P.J.; Linhares, A.X.; Palhares, F.A.B. (2000) A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in Southeastern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 95 (1): 135-38.
- Carvalho, N. M.; Nakagawa, J. (2000). *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 588 p.
- Carvalho, N.M. (1986). Vigor de sementes. In: SEMANA DE ATUALIZAÇÃO EM PRODUÇÃO DE SEMENTES, 1, 1986, Piracicaba. *Anais...* Campinas: Fundação Cargill, p.207-223.

- Carvalho, N.M.; Nakagawa, J. (2000). *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 4ed. Jaboticabal: FUNEP, 588p.
- Carvalho, N.M.; Toledo, F.F. (1976). Determinação da germinação de sementes de capim colônia (*Panicum maximum* Jacq) através do uso do tetrazólio. I - Proposição de um método de trabalho. *Científica*, 4 (2): 185-190.
- Castro, E.R.; Galetti, M. (2004) Frugivoria e dispersão de sementes pelo lagarto teiú tupinambis merianae (reptilia: teiidae) *Papéis Avulsos de Zoologia*, 44 (6): 91-97.
- Catts, E.P.; Goff, M. L. (1992) Forensic entomology in criminal investigations. *Annu. Rev. Entomol.*, 37: 253-72.
- Cavalcante, A.M.B.; Perez. S.C.J.G.A. (1995). Efeitos dos estresses hídrico e salino sobre a germinação de sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 30: 281-289.
- Cazzeta, E.; Rubim, P.; Lunardi, V.O.; Francisco, M.R.; Galetti, M. (2002) Frugivoria e dispersão de sementes de *Talauma ovalata* (Magnoliaceae) no sudeste brasileiro. *Ararajuba*, 10 (2): 199-206.
- CESE, Comitê Econômico e Social Europeu. (2004) *Promoção de tecnologias para o desenvolvimento sustentável: plano de ação sobre tecnologias ambientais da união européia*. Bruxelas: Comissão das Comunidades Européias, 53p.
- Chang, E.R.; Zozaya, E.L.; Kuijper, D.P.J.; Bakker, J.P. (2005). Seed dispersal by small herbivores and tidal water: are they important filters in the assembly of salt-marsh communities? *Functional Ecology*. 19 (4): 665–673.
- CIAT - Centro Internacional de Agricultura Tropical. (1990). *Agronomia Cerrados*. In: *Programa de Pastos Tropicales*. Informe Anual 1988. Cali, Colombia, 1989. p.121-129.
- Comastri Filho, J.A. (1984). *Pesquisas em forrageiras no Pantanal*. Corumbá, EMBRAPA, UEPAE, 67p. (Documentos, 3).

- Cook, B.; Pengelly, B.; Brown, S.; Donnelly, J.; Eagles, D.; Franco, A.; Hanson, J.; Mullen, B.; Partridge, I.; Peters, M., Schultze-Kraft, R. (2008). *Sesbania sesban*. Disponível em: <<http://www.tropicalforages.info/index.htm>>, Acesso em: 08 ago 2008.
- Copeland, T.G.; Bruce, C.F.; Midyett Junior, Y.W. (1959). The unofficial application of tetrazolium tests as an AID in checking germination cains. *Proceedings of the Association of Official Seed Analysts*, Oklahoma, 49: 134-141.
- Cóser, A.C.; Cruz Filho, A.B. (1989) Estabelecimento de leguminosas em pastagens de capim-gordura. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 18(5): 410-416.
- Crowder, L.V.; Chheda, H.R. (1982). *Tropical Grassland Husbandry*. New York: Longman, 562p.
- Cunha, M.J., Amaro, R., Oliveira, A. et al. (2005) *Tecnologias limpas em agropecuária*. 1.ed. Porto: Principia - Publicações Universitárias e Científica, 104p.
- Daniel, O.; Passos, C.A.M. (2002) Sistemas agroflorestais (Silvipastoris e Agrissilvipastoris) na região Centro-Oeste do Brasil: potencialidades, estado atual da pesquisa e da adoção de tecnologia. CD-ROM dos *Anais do Simpósio Internacional sobre Sistemas Agroflorestais Pecuários*, Juiz de Fora, MG, Brasil: Embrapa Gado de Leite.
- Davide, A.C.; Botelho, S.A.; Malavasi, M.M.; Oliveira, L.M. (1995). Avaliação da viabilidade de sementes de pau-pereira (*Platycyamus regnellii*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES 5, 1995, Florianópolis. *Anais...* Florianópolis: ABRATES, 178p.

- Deminicis, B.B. (2005) *Germinação de sementes de leguminosas forrageiras tropicais sob tratamentos químicos, físicos e biológicos*. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 47p.
- Deminicis, B.B.; Almeida, J.C.C.; Araújo, S.A.C.; Blume, M.C.; Vieira, H.D.; Dobbss, L.B. (2007). Sementes de leguminosas submetidas a diferentes períodos de estresse salino. *Archivos de Zootecnia*, 56 (215): 347-350.
- Deminicis, B.B.; Almeida, J.C.C.; Blume, M.C.; Araújo, S.A.C.; Pádua, F.T.; Zanine, A.M.; Jaccoud, C.F. (2006). Superação da dormência de sementes de oito leguminosas forrageiras tropicais. *Archivos de Zootecnia*, 55 (212): 401-404.
- Deminicis, B.B.; Almeida, J.C.C.; Blume, M.C.; Souza, M.F. (2005) *Influência do tamanho das sementes sobre a germinação de oito leguminosas tropicais*. CD-ROM dos Anais.... Zootec 2005, Campo Grande, MS, Brasil.
- Deminicis, B.B.; Almeida, J.C.C.; Malafaia, P.A.M.; Blume, M.C.; Abreu, J.B.R.; Vieira, H.D. (2009). Germinação de sementes em placas fecais bovinas, *Arch. Zootec*, 58 (221): 73-84.
- Deswal, D.P.; Chand, U. (1997). Standardization of the tetrazolium test for viability estimation in ricebean (*Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi e Ohashi) seeds. *Seed Science and Technology*, Zurich, 25: 409-417.
- Dias, D.C.F.S.; Bhering, M.C.; Tokuhisa, D.; Hilst, P.C. (2006). Teste de condutividade elétrica para avaliação do vigor em sementes de cebola. *Revista Brasileira de Sementes*, 28(1): 154-162.
- Dias, D.C.F.S.; Marcos-Filho, J. (1996). Testes de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). *Scientia Agricola*, 53 (1): 31-42.

- Dias, M.C.L.L.; Alves, S.J. (2001). Avaliação da viabilidade de sementes de *Brachiaria brizantha* (Hoscst. Ex A. Rich) Stapf pelo teste de tetrazólio. *Informativo Abrates*, 11(2): 317 p.
- Dias, M.C.L.L.; Barros, A.S.R. (1995). *Avaliação da qualidade de sementes de milho*. Londrina: IAPAR, 43p. (Circular, 88).
- Dias, P.F.; Souto, S.M.; Franco, A.A. (2007). Leguminosas arbóreas introduzidas em pastagem. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42 (1): 119-126.
- Duno, R.D.S; Fantz, P.; Fernández-Concha, G.C.; ITZA, L.L.C. (2008). *Centrosema* and *Clitoria* (LEGUMINOSAE: PAPILIONIDAE: PHASEOLEAE: CLITORINAE) in the mexican Yucatán peninsula, including three lectotypifications. *Vulpia*, 7: 11-15.
- Ehret, D.L.; Plant, A.L. (1999). Salt tolerance in crop plants. (Chapter 5). Pp: 69–120. In: Dhaliwal, G.S.; Arora, R. (eds.). *Environmental Stress in Crop Plants*. Commonwealth Publishers, New Delhi, India. 331p.
- Embrapa Gado de Corte. (2000). *Estilosantes Campo Grande. Campo Grande*, 2 p. (Embrapa Gado de Corte. Gado de Corte Divulga, 38).
- Fantz, P.R. (2001). *Clitoria*. In: Stevens, W.D.; Ulloa U.C., Pool, A.; Montiel, O.M. (Eds.) *Flora de Nicaragua*, Tomo 2: Angiospermas (Fabaceae–Oxalidaceae). Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard., 85: 973–976.
- Fernandes, R.C.; Magalhães, H.M.; Lopes, P.S.N.; Brandão Júnior, D.S.; Fernandes, R.C.; Gomes, J.A.O.; Paulino, M.A.O.; Carneiro, P.A.P. (2007). Elaboração da metodologia de aplicação do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade das sementes de coquinho-azedo (*Butia capitata* (Mart.) Becc). *Revista Brasileira de Agroecologia*, 2 (2): 1004-1007.
- Ferreira, D.F. (2000). Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windons: versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE

INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. *Anais...* São Carlos: UFSCar, p. 225-258.

Ferreira, E.; Rocha, G.C.; Braz, S.P. et al. (2004). Modelos estatísticos para o estudo da distribuição de excretas de bovinos em pastagens tropicais e sua importância na sustentabilidade desses sistemas. *Livestock Research for Rural Development*, Cali, 16(9): Art.66. Disponível em: <<http://www.cipav.org.co>>. Acessado em: 10 jun. 2005.

Ferreira, R.A.; Vieira, M.G.G.C.; Pinho, E.V.R.V.; Davide, A.C.; Tonetti, O.A.O. (2001). Morfologia de sementes e plântulas e avaliação da viabilidade da semente de sucupira-branca (*Pterodon pubescens* Benth. Fabaceae) pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, 23 (1): 108-115.

Figueroa, J.A.; Castro, S.A. (2002). Effects of bird ingestion on seed germination of four woody species of the temperate of Chiloe esland. *Plant Ecology*, 160: 17 - 23.

Fowler, J.A.P.; Bianchetti, A. (2000). *Dormência em sementes florestais*. Colombo: Embrapa Florestas, 21p. (Documentos, 40).

França Neto, J.B.; Krzyzanowski, F.C.; Costa, N.P. (1999). *Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja*. In: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D.; França-Neto, J.B. (eds). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: Abrates. p. 8.5/1- 8.5/26.

França Neto, J.B.; Pereira, L.A.G.; Costa, N.P.; Krzyzanowski, F.C.; Henning, A.A. (1988). *Metodologia do teste do tetrazólio em semente de soja*. Londrina, Embrapa-CNPSO, Documentos 32, 60 p.

França-Neto, J.B.; Krzyzanowski, F.C.; Costa, N.P. (1998). *O teste de tetrazólio em sementes de soja*. Londrina: Embrapa-CNPSO, 72 p.

- Francisco, M. R.; Galetti, M. (2001) Frugivoria e dispersão de sementes de *Rapanea lancifolia* (Myrsinaceae) por aves numa área de cerrado do Estado de São Paulo, sudeste do Brasil. *Ararajuba*, 9 (1): 13-19.
- Franke, I.L.; Lunz, A.M.P.; Valentim, J.F. (2001) Situação atual e potencial dos sistemas silvipastoris no Estado do Acre. *In: Carvalho, M.M., Alvim, M.J., Carneiro, J.C. (eds.) Sistemas agroflorestais pecuários: opções de sustentabilidade para áreas tropicais e subtropicais.* Juiz de Fora: Embrapa CNPGL; FAO, 19-40.
- Galetti, M.; Francisco, M.R. (2002) Aves como potenciais dispersoras de *Ocotea pulchella* Mart. (Lauraceae) numa área de vegetação de cerrado do sudeste brasileiro. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, 25 (1): 11-17.
- Galetti, M.; Pizo, M.A. (1996). Fruit eating birds in a forest fragment in southeastern Brazil. *Ararajuba*, 4: 71–79.
- Garcia, D.C.; Menezes, N.L. (1999). Teste de envelhecimento precoce para sementes de azevém, aveia preta e milho. *Ciência Rural*, 29 (2): 233-237.
- Garcia, R.; Andrade, C.M.S. (2001) Sistemas silvipastoris na Região Sudeste. *In: Carvalho, M.M., Alvim, M.J., Carneiro, J.C. (eds.) Sistemas agroflorestais pecuários: opções de sustentabilidade para áreas tropicais e subtropicais.* Juiz de Fora: EMBRAPA CNPGL; FAO, 173-187.
- Gardener, C.J. (1993). The colonization of a tropical grassland by *Stylosanthes* from seed transported in cattle faeces. *Australian Journal of Agricultural Research*, 44 (2): 299-315.
- Gardener, C.J.; Mcivor, J.G.; Jansen, A. (1993b) Survival of seeds of tropical grassland species subjected to bovine digestion. *Journal of Applied Ecology*, 30: 75-85.

- Gardener, C.J.; Mcivor; J.G.; Jansen, A. (1993a) Passage of legume and grass seeds through the digestive tract of cattle and their survival in faeces. *Journal of Applied Ecology*, 30: 63-74.
- Godoy, P.B. (2007). *Aspectos nutricionais de compostos fenólicos em ovinos alimentados com leguminosas forrageiras*. Tese (Doutorado em energia Nuclear na Agricultura e no Meio Ambiente). Centro de Energia Nuclear na Agricultura/Universidade de São Paulo. Piracicaba, 97f.
- Goins, G.D.; Russele, M.P. (1996). Fine root demography in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant and Soil*, Dordrecht, 185: 281-291.
- Grabe, D.F. (1976). *Manual do teste de tetrazólio*. Brasília: AGIPLAN,. 85p.
- Greenhalgh, J.F.D.; Reid, G.W. (1968). The effects of grazing intensity on herbage consumption and animal production. III Dairy cows grazed at two intensities on clean or contaminated pasture. *Journal of Agricultural Science*, 71: 223-228.
- Guevara, S.; Laborde, J. (1993) Monitoring seed dispersal at isolated standing trees in tropical pastures: consequences for local species availability. *Vegetatio* 107: 319-338.
- Hampton, J.G.; Coolbear, P.O. (1990). Potential versus actual seed performance  $\frac{3}{4}$  can vigour testing provide an answer? *Seed Science and Technology*, 18(2): 215-228.
- Hampton, J.G.; Johnstone, K.A.; Eua-Umpun, V. (1992). Bulk conductivity test variables for mungbean, soybean and french bean seed lots. *Seed Science and Technology*, 20: 677-686.
- Hilhorst, H.W.M. (1998). The regulation of secondary dormancy. The membrane hypothesis. *Seed Science Research*, 8(1):77-80.

- Hirata, M, Sugimoto, Y.; Ueno, M. (1997). Distribution of dung pats and ungrazed areas in Bahiagrass (*Paspalum notatum* Flüggé). *Grassland Science* (Japan) Tokyo, 33(2): 128-139.
- Holden, L.A. (1999). Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for tem feeds. *Journal Dairy Science*, Savoy, 82, 1791-1794.
- Howe, H.F.; Smallwood, (1982). Ecology of seed dispersal. *Annual Review of Ecology and Systematics*, Palo Alto, 13: 201-228.
- Hungate, R.E. (1966). *The rumen and its microbes*. New York: Academic Press, 533 p.
- ISTA - International Rules for Seed Testing. (1993). *Seed Science and Technology*. Zurich, 363p. Supplement.
- IZ-APTA – Instituto de Zootecnia - Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (2008). *Instituto de Zootecnia expõe na Agrishow 2008*. Disponível em: <<http://www.iz.sp.gov.br>>, Acesso em: 15 ago 2008.
- Izhaki, I.; Ne'eman, D.G. (1997). Hares (*Lepus* spp.) as seed dispersers of *Retama raetam* (Fabaceae) in a sandy landscape. *J. Arid Environ.* 37: 343-354.
- Janzen, D. H. (1993). *Dispersal of seeds by vertebrate guts*. In: Futuyma, D.J. & Slatkin, M. (ed). *Coevolution*. Sinauer Associates Inc. Publishers. Sunderland, Massachussets, USA, 555p.
- Janzen, D.H. (1981). *Enterolobium cyclocarpum* seed passage rate and survival in horses, Costa Rican Pleistocene seed dispersal agents. *Journal of Ecology*, 62: 593-601.
- Janzen, D.H.; Demment, M.W.; Robertson, J.B. (1985). How Fast and Why do Germinating Guanacaste Seeds (*Enterolobium cyclocarpum*) Die Inside Cows and Horses? *Biotropica*, St. Louis, 17 (4): 322-325.

- Jingura, R.M.; Sibanda, S.; Hamudikuwanda, H. (2001). Yield and nutritive value of tropical forage legumes grown in semi-arid parts of Zimbabwe. *Tropical Grassland*, 35: 168-174.
- Johansson, M.E., Nilsson, C.; Nilsson, E. (1996). Do rivers function as corridors for plant dispersal? *Journal of Vegetation Science*, 7: 593-598.
- Johansson, M.E.; Nilsson, C. (1993): Hydrochory, population dynamics and distribution of the clonal aquatic plant *Ranunculus lingua*. *Journal of Ecology*. 81: 81-91.
- Jones, R.M., Noguchi, M., Bunch, G.A. Levels of germinable seed in topsoil and cattle faeces in legume-grass and nitrogen-fertilized pastures in south-east Queensland. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 42 (6): 953–968.
- Jones, R.M.; Bishop, H.G.; Clem, R.L.; Conway, M.J.; Cook, B.G.; Moore, K.; Pengelly, B.C. (2000) Measurements of nutritive value of a range of tropical legumes and their use in legume evaluation. *Tropical Grasslands*, 34: 78-90.
- Keoghan, J.M. (1980). Adaptable and productive forage legumes and grasses for more intensive small ruminant livestock systems in the caribbean. *Tropi. Anim. Prod.*, 5(1): 8-14.
- Kretschmer, A.E.J.; Pitman, W.D. (2001). *Germplasm resources of tropical forage grasses*. In: Sotomayor-Ríos, A.; Pitman, W.D. (Eds.) *Tropical forage plants: development and use*. Boca Raton: CRC Press, p. 41-57.
- Krügel, M.M.; Burger, M.I.; Alves, M.A. (2006). Frugivoria por aves em *Nectandra megapotamica* (Lauraceae) em uma área de floresta estacional decidual no Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia (Zool.)*, 96(1): 17-24.
- krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D.; França NETO, J.B. (eds.). (1999). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, 218p.

- Kyneur, G.W. (1962) The role of fertiliseres in establishing *Glycine javanica*. L. on latosol soil. *Proceddings... N. Queensl. Agros. Conf.*, 10-15.
- Levine, J.M.; Murrel, D.J. (2003). The community-level consequences of seed dispersal plants. *Annu.Rev. Ecol. Evol. Syst*, 34: 549-574.
- Lima, M.G.S.; Lopes, N.F.; Moraes, D.M.; Abreu, C.M. (2005). Qualidade fisiológica de sementes de arroz submetidas a estresse salino. *Revista Brasileira de Sementes*, 27 (1): 54-61.
- Lisboa, C.A.V.; Medeiros, R.B.; Azevedo, E.B.; Patino, H.O.; Carlotto, S.B.; Garcia, R.P.A. (2009). Poder germinativo de sementes de capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Ness) recuperadas em fezes de bovinos. *R. Bras. Zootec.*, 38 (3): 405-410.
- Loeffler, T.M.; Tekrony, D.M.; Egli, B.D. (1988). The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. *Journal of Seed Technology*, Springfield, 12: 37-53.
- Lopes, J.C.; Macedo, C.M.P. (2008). Germinação de sementes de couve chinesa sob influência do teor de água, substrato e estresse salino. *Revista Brasileira de Sementes*, 30(3): 79-85.
- Maas, E.V.; Hoffman, G.J. (1997). Crop salt tolerance: current assessment. *Journal of Irrigation and Drainage Division*, 103(2): 115-134.
- Macdicken, K.G.; Vergara, N.T. (1990) *Agroforestry, classification and management*. New York, John Wiley, 382p.
- Machado, L.A.Z., Denardin, R.N.; Jacques, A.V.A. (1997). Percentagem e dureza do tegumento de sementes de três espécies forrageiras recuperadas em fezes ovina. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 26(1): 42-45.

- Maclusky, D.S. (1960). Some estimates of the area of pasture fouled by the excreta of dairy cows. *Journal of the British Grassland Society*, 15: 181–188.
- Maguire, J.D. (1962). Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, Madison, 2(1): 176-177.
- Malavasi, M.M.; Davide, A.C.; Oliveira, L.M.; Botelho, S.A.; Tonetti, O.A. (1996). Avaliação da viabilidade de sementes de *Dipteryx alata* Voq. - Fabaceae (baru) através do teste de tetrazólio. In: SEMINÁRIO PANAMERICANO DE SEMILLAS, 15.; WORKSHOP SOBRE MARKETING EM SEMENTES E MUDAS, 3., 1996, Gramado. *Anais...* Gramado: CESM/FELAS, 43p.
- Manhães, M.A., Assis, L.C.S.; Castro, E.R.M.. 2003. Frugivoria e dispersão de sementes de *Miconia urophylla* (Melastomataceae) por aves em um fragmento de Mata Atlântica secundária em Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. *Ararajuba*. 11(2): 173-180.
- MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Serviço nacional de proteção de cultivares. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>, Acesso em: 10 ago 2008.
- Marcos Filho, J. (1999). Teste de envelhecimento acelerado. In: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D.; França Neto, J.B. (Ed.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, p.3.1-3.24.
- Marcos Filho, J. (2005). *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba: FEALQ, 495p.
- Marcos Filho, J.; Cícero, S.M.; Silva, W.R. (1987). *Avaliação da qualidade das sementes*. Piracicaba: FEALQ, 230p.
- Marcos Filho, J.; Silva, W.R.; Novembre, A.D.L.C.; Chama, H.C.P.C. (1990). Estudo comparativo de métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja, com ênfase ao teste de condutividade elétrica. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 25: 1805-1815.

- Matilla, A.J., 2000. Ethylene in seed formation and germination. *Seed Science Research*, 10: 111-126.
- McDonald, M.B. (1998). Seed quality assessment. *Seed Science Research*, Wallingford, 8: 265-275.
- Medellin, R.A.; Gaona, O.. (1999). Seed dispersal bats and birds in forests and disturbed habitats of Chiapas, Mexico. *Biotropica*, 31: 478-485.
- Melado, J. (1999) *Formação e Manejo de Pastagem Ecológica*. Viçosa: CPT, 70 p.
- Melado, J. (2000) *Manejo de Pastagem Ecológica: Um Conceito para o Terceiro Milênio*, Viçosa: Aprenda Fácil, 224 p.
- Melhem, T.S. (1974). Entrada de água na semente de *Dipteryx alata* Vog. (Leguminosae-Lotoideae). *Hoehnea*, São Paulo, 4: 33-48.
- Mendonça, E.A.F ; Coelho, M.F.B ; Luchese, M. (2006). Teste de tetrazólio em sementes de mangaba-brava (*Lafoensia pacari* St. Hil. - Lythraceae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 8 (2): 33-38.
- Mendonça, E.A.F.; Ramos, N.P.; Paula, R.C. (2001). Viabilidade de sementes de *Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel (louro-pardo) pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, 23(2): 64-71.
- Michael, P.J.; Steadman, K.J.; Plummer, J.A.; Vercoe, P. (2006) Sheep rumen digestion and transmission of weedy *Malva parviflora* seeds. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 46 (10): 1251-1256.
- Miranda, C.H.B.; Fernandes, C.D.; Cadisch, G. (1999). Quantifying the nitrogen fixed by *Stylosanthes*. *Pasturas tropicales*, 21(1): 64-69.

- Monteiro-Filho, E.L.A.; Penereiro J.L. (1987) Estudo de decomposição e sucessão sobre uma carcaça animal numa área do Estado de São Paulo, Brazil. *Rev. Brasil. Biol.*, 47 (3): 289-95.
- Moore, R.P. (1972). Interpretation of color differences in tetrazolium testing. *Seed Technologist News*, 44 (3): 22-24.
- Mouissie, A.M.; Veen, C.E.J.V.D.; Veen, G.F.; Diggelen, R.V. (2005). Ecological correlates of seeds survival after ingestion by fallow deer. *Functional Ecology*, 19: 284-290.
- Muniz, M.F.B.; Gonçalves, N.; Garcia, D.C.; Kulczynski, S.M. (2004). Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de melão. *Revista Brasileira de Sementes*, 26 (2): 144-149.
- Munns, R. (2005). Genes and salt-tolerance: bringing them together. *New Phytologist*, 3: 645–663.
- Nascimento, W.M.O.; Carvalho, N.M. (1998). Determinação da viabilidade de sementes de jenipapo (*Genipa americana* L.) através do teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de sementes*, 20 (2): 470-474.
- Nery, M.C.; Carvalho, M.L.M.; Oliveira, L.M. (2007). Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. *Semina: Ciências Agrárias*, 28 (3): 365-372.
- Norman, M.J.T.; Green, J.O. (1958). The local influence of cattle dung urine upon the yield and botanical composition of permanente pasture. *Journal of the British Grassland Society*, 13: 39-45.
- Novembre, A.D.L.C.; Chamma, H.M.C.P.; Gomes, R.B.R. (2006). Viabilidade das sementes de braquiária pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, 28: 147-151.

- Oliveira, D.M.T. (2001). Morfologia comparada de plântulas e plantas jovens de leguminosas arbóreas nativas: espécies de Phaseoleae, Sophoreae, Swartzieae e Tephrosieae. *Revista Brasileira de Botânica*, 24 (1): 85-97.
- Oliveira, L.M., Carvalho, M.L.M., Davide, A.C. (2005b). Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert - Leguminosae Caesalpinioideae., *Cerne*, 11 (2): 159-166.
- Oliveira, L.M.; Carvalho, M.L.M.; Nery, M.C. (2005a). Teste de tetrazólio em sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *T. impetiginosa* (Martius ex A. P. de Candolle) Standley Bignoniaceae. *Revista Ciência Agronômica*, 36 (2): 169-174.
- Ortega, B.P. (1999). *Emergencia y supervivencia de plântulas de Prosopis ferox en el Parque Nacional Los Cardones*. 1999. (Salta, Argentina). Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina.
- Ortega, B.P.; Viana, M.L.G.; Larenas, Saravia, M. (2001). Germinación de semillas de *Caesalpinia paraguariensis* (Fabaceae): agentes escarificadores y efecto del ganado. *Revista de Biología Tropical*. 49 (1): 301-304.
- Pádua, F.T.; Almeida, J.C.C.; Magieiro, J.Q.; Nepomuceno, D.D.; Silva, T.O.; Rocha, N.S. (2004). Produção de matéria seca e de sementes de leguminosas forrageiras tropicais cultivadas em diferentes espaçamentos. *Revista Universidade Rural, Série Ciências da Vida*. EDUR, 24(2): 67-71.
- Pádua, F.T.; Almeida, J.C.C.; Silva, T.O.; Rocha, N.S.; Nepomuceno, D.D. (2006). Produção de matéria seca e composição químico-bromatológica do feno de três leguminosas forrageiras tropicais em dois sistemas de cultivo. *Ciência Rural*, 36 (4): 1253-1257.
- Pakeman, R.J.; Digneffe, G.; Small, J.L. (2002). Ecological correlates of endozoochory by herbivores. *Functional Ecology*, 16: .296-304.

- Parbery, D.P. (1967). *Pasture and fodder crop plant introduction at Kymberley Research Station, W.A.* Perennial legumes. Australian: CSIRO, Division Land Research, p. 64. (Tech. Mem. 67/10).
- Peco, B.; Lopez-Merino, L.; Alvir, M. (2006). Survival and germination of Mediterranean grassland species After simulated sheep ingestion: ecological correlates with seed traits. *Acta oecologica*. 30: 269–275.
- Peinetti, R.; Pereyra, M.; Kin, M.A.; Sosa, A. (1993). Effect of cattle ingestion on viability and germination rate of caldén (*Prosopis caldenia*) seeds. *J. Range Manage.* 46: 483-486.
- Peixoto, A.M.; Furlan, R.S.; Moraes, C.L. (1969). *Estudo sobre a variação da composição química durante o ciclo vegetativo da soja perene (G. Javanica)*. Solo, Centro Acad. “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 61(2): 59-65.
- Pereira, A.V.; Valle, C.B.; Ferreira, R.DE.P.; Milles, J.W. (2001) *Melhoramento de forrageiras tropicais*. In: Recursos Genéticos & Melhoramento – Plantas. Nass, L.L.; Valois, A.C.C.; Melo, I.S.; Inglis-Valadares, M.C.; (eds). Fundação MT, Rondonópolis, 549-601.
- Pereira, J.M. (2001). Produção e persistência de leguminosas em pastagens tropicais. In: SIMPÓSIO SOBRE FORRAGICULTURA: TEMAS EM EVIDÊNCIA, 2., 2001. Lavras, Brasil. *Anais...* Lavras, p. 111-142.
- Piggin, C.M. (1978). Dispersal of *Echium plantagineum* L. by sheep. *Weed Research*, 18 (3): 155–160.
- Piña-Rodrigues, F.C.M.; Santos, N.R.F. (1988). Teste de tetrazólio. In: Piña-Rodrigues, F. C. M. *Manual de análise de sementes florestais*. Campinas: Fundação Cargill. p.91-100.
- Pinheiro Machado, L.C. (2004) *Pastoreio Racional Voisin: Tecnologia Agroecológica para o Terceiro Milênio*. Porto Alegre: Editora 5 Continentes, 314 p.

- Pinto, T.L.F.; Brancalion, P.H.S.; Novembre, A.D.L.C.; S.M., Cicero. (2008). Avaliação da viabilidade de sementes de coração-de-negro (*Poecilanthe parviflora* BENTH. - Fabaceae-Faboideae) pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, 30 (1): 208-214.
- Pizo, M.A. (1997) Seed dispersal and predation in two populations of *Cabralea canjarana* (Meliaceae) in the Atlantic Forest of southeastern Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, 13: 559-578.
- Pizo, M.A.; SIMÃO, I. (2001) Seed deposition patterns and the survival of seeds and seedlings of the palm *Euterpe edulis*. *Acta Oecologica*. 22: 229-233.
- Powell, A.A. (1998). Seed improvement by selection and invigoration. *Scientia Agricola*, 55 (special number): 126-133.
- Prasad, S.; Krishnaswamy, J.; Chellam, R.; Goyal, S.P. (2006) Ruminant-mediated Seed Dispersal of an Economically Valuable Tree in Indian Dry Forest. *Biotropica*, 38 (5): 679–682.
- Prete, C.E.C. (1992). *Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café (Coffea arabica L.) e sua relação com a qualidade da bebida*. 1992. Tese (Doutorado em Agronomia/ Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 125 f.
- Prisco, J.T.; O’leary, J.W. (1970). Osmotic and toxic effects of salinity on germination of *Phaseolus vulgaris* L. seeds. *Turrialba*, San José, 20: 177-184.
- Queiroga, R.C.; Andrade Neto, R.C.; Nunes, G.H.S.; Medeiros, J.F., Araújo, W.B.M. (2006). Germinação e crescimento inicial de híbridos de meloeiro em função da salinidade. *Horticultura Brasileira*, 24(3): 315-319.
- Rebouças, M.A.; Façanha, J.G.V.; Ferreira, L.G.R.; Prisco, J.T. (1989). Crescimento e conteúdo de N, P, K e Na em três cultivares de algodão sob

condições de estresse salino. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 1(1): 79-85.

Rey, J.C.R.; Juárez, P.V.; Gusmán, L.P.; Vera, J.R.T.; Ortega, A.S.R. (1984). *Algunas leguminosas forrageras subtropicales para Tcuman*. Las Talitas: Estación Experimental Agro-Industrial "Obispo Colombres" (Boletín técnico, 147), 14p.

Rezende, A.V.; Vilela, H.H.; Pereira, R.S.A.; Nogueira, D.A.; Landgraf, P.R.C.; Vieira, P.F. (2007). Germinação de sementes de *Stylosanthes* misturadas ao sal para bovinos. In: Congresso de Forragicultura e Pastagens, 2., 2007, Lavras. *Anais...* NEFOR, Lavras, CD-ROM.

Ribeiro, R.C.; Rossiello, R.P.; Macedo, R.O.; Barbieri JR, E.B. (2007). Introdução de desmódio em pastagem estabelecida de *Brachiaria humidicola*: densidade e freqüência da leguminosa no consórcio. *Rev. Univ. Rural, Sér. Ci. Vida*, 27(2): 41-49.

Robles, A.; Castro, J. Effect of thermal shock and ruminal incubation on seed germination in *Helianthemum apenninum* (L.) Mill. (Cistaceae). *Acta Botánica Malacitana*. 27: 41-47.

Rodrigues, F.H.G. (2002) *Biologia e conservação do lobo-guará na estação ecológica de águas emendadas*, DF. Tese (Doutorado em Ecologia) – Campinas – SP, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp. 96p.

Romero, N.F. (1998) *Manejo Fisiológico dos pastos nativos melhorados*. Guaíba - RS, Livraria e Editora Agropecuária Ltda., 110 p.

Rosito, M.J. Marchezan, E. Rocha, M.G. et al. (2000) Avaliação da coleta e germinação de sementes de duas forrageiras de inverno recuperadas em fezes de bovinos sob pastejo. CD-ROM dos *Anais da Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, Viçosa-MG.

- Santos, E.F. (1999) *Ecologia alimentar e dispersão de sementes pelo lobo-guará (Chrysocyon brachyurus) em uma área rural no sudeste do Brasil (CARNIVORA: CANIDAE)*. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Rio Claro – SP, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP. 68p.
- Santos, G.T.; Cecato, U.; Rigolon, L.P. et al. (1996). Composição química e fermentação *in situ* da Leucena (*Leucaena leucocephala*) e do Desmodium (*Desmodium ovalifolium*) submetidos à conservação na forma de feno e silagem. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., 1996, Fortaleza, CE. *Anais...* Fortaleza: SBZ, p. 347-349.
- Santos, M.A.O.; Novembre, A.D.L.C.; Marcos Filho, J. (2007). Tetrazolium test to assess viability and vigour of tomato seeds. *Seed Science and Technology*, 35: 213-223.
- Santos, S.R.G.; Paula, R.C. (2007). Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do vigor de lotes de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Downs (BRANQUILHO) – EUPHORBIACEAE. *Revista Instituto Florestal*, 19(1): 1-12.
- Scaranari, H.J.; Inforzato, R. (1952). Sistema radicular das principais leguminosas empregadas como adubo verde em cafezal. *Bragantia*, 2: 291-297.
- Schupp, E.W. (1993). Quantity, quality and the effectiveness of seed dispersal by animals. *Vegetatio* 107/108: 15-29.
- Seiffert, N.F. (1982). *Métodos de escarificação de sementes de leguminosas forrageiras tropicais*. Campo Grande, MS: EMBRAPA Gado de Corte. 6p. (Comunicado Técnico, 13).
- Seneewong, A.; Baskin, C.C.; Batson Junior, W.E. (1991). The relationship between internal disease organisms and germination of gin run cottonseed (*Gossypium hirsutum* L.). *Journal of Seed Technology*, Lansing, 15(2): 91-96.

- Silva, D.J.; Queiroz, A.C. (2002). *Análise de alimentos* (métodos químicos e biológicos). 2.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 235p.
- Silva, M.J.; Souza, J.G.; Barreiro Neto M.; Silva, J.V. (1992). Seleção de três cultivares de algodoeiro para a tolerância à germinação em condições salinas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 27(4): 655-659.
- Silva, T.O. (2008). *Dispersão, germinação e persistência de leguminosas forrageiras tropicais através das fezes de bovinos*. Seropédica: UFRRJ, 2008. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 46 p.
- Silva, T.O., Almeida, J.C.C., Rocha, N.S.; Costa, Z.S.; Lima, G.P.; Grassi, P.H.; Ferreira, T.C.; Araújo, R.P., Abreu, J.B.R. (2007). Dispersão e germinação de leguminosas forrageiras tropicais através das fezes de bovinos. In: Congresso Internacional de Zootecnia, 9., 2007, Londrina. *Anais...* ZOOTEC, Londrina, CD-ROM.
- Simão Neto, M.; Jones, R.M.; Ratcliff, D. (1987) Recovery of pasture seed fed to ruminants. I. Seed of tropical pasture species fed to cattle, sheep and goats. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 27: 239-246.
- Skerman, P.J. (1977). *Tropical forage legumes*. Rome: FAO, 609 p. (Plant Production and Protection, Series Nº.2).
- Smith, K.G.V. (1986). *A manual of forensic entomology*. Cornell Unvi. Press, Ithaca, NY. 205p.
- Sório Jr, H. (2003) *Pastoreio Voisin: Teorias - Práticas - Vivências*. Passo Fundo, RS: Editora da UPF, 400p.
- Souto, S.M.; E.D. Lucas. (1972) Estabelecimento de leguminosas forrageiras tropicais, *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Rio de Janeiro, Série zootecnia, 7: 33-38.

- Souza, S.O.; Santana, J.; Shimoya, A. (2002). Comportamento de gramíneas forrageiras tropicais isoladas e em associação com leguminosas na região norte-fluminense. *Ciência Agrotecnologia*, 26 (Edição Especial): 1554-1561.
- Stender, S.; Poschlod, P.; Vauk-Hentzelt, E.; Dervede, T. (1997). Die Ausbreitung durch Galloway-Rinder. *Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie*, 27: 173-180.
- Tambeline, M.; Perez, S.C.J.G. (1998). Efeito do estresse hídrico simulado com PEG (6000) ou manitol na germinação de sementes de barbatimão (*Stryphnodendron polyphyllum* Mart.). *Revista Brasileira de Sementes*, 20(1): 226-232.
- Tao, J.K. (1978). Factors causing variations in the conductivity test for soybean seeds. *Journal of Seed Technology*, Springfield, 3(1): 10-18.
- Teixeira, H.; Machado, J.C.; Oride, D.; Alves, M.C.; Noda, A. (2005) .Técnica de restrição hídrica: efeito sobre *Acremonium strictum*, protrusão de sementes e obtenção de sementes de milho infetadas. *Fitopatologia Brasileira*, 30(2): 109-114.
- Teixeira, J.C. (1997) *Nutrição de ruminantes*. Lavras: Edições FAEPE, 239 p.
- Teixeira, V.I. (2008). *Aspectos agronômicos e bromatológicos de leguminosas forrageiras na Zona da Mata Seca de Pernambuco*. Recife, PE: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2008. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. 53p.
- Tekrony, D.M. (1995). Accelerated aging. In: Van De Venter, H.A. (Ed.). *Seed vigour testing seminar*. Copenhagen: ISTA, p.53-72.
- Tilley, J.M.A.; Terry, R.A. (1963). A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, Hurley, 18(2): 104-111.

- Tokarnia, C.H.; Döbereiner, J.; Peixoto, P.V. (2000) *Plantas tóxicas do Brasil*. Rio de Janeiro: Ed. Helianthus, 310p.
- Tonin, F. (2004). Fabácea, a “praga” que salvou rebanho leiteiro. *DBO Mundo do Leite: Revista do Mercado Lácteo*, 11: 18-21.
- Torres, S.B. (2002). *Métodos para avaliação do potencial fisiológico de sementes de melão*. 2002. Tese (Doutorado em Fitotecnia)- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 103f.
- Torres, S.B. (2007). Germinação e desenvolvimento de Plântulas de melancia em função da salinidade. *Revista Brasileira de Sementes*, 29(3): 77-82.
- Torres, S.B.; Negreiros, M.Z. (2008). Envelhecimento acelerado em sementes de berinjela. *Revista Brasileira de Sementes*, 30(2): 209-213.
- Valentim, J.F.; Carneiro, J.C. (1998). *Quebra da dormência e plantio de puerária em sistemas de produção agropecuários e agroflorestais*. Rio Branco: Embrapa-CPAF-Acre, (Instruções Técnicas Nº 17).
- Valetim, J.F.; Andrade, C.M.S; Feitoza, J.E.; Sales, M.G.; Vaz, F.A. (2002). *Métodos de introdução do amendoim forrageiro em pastagens já estabelecidas no acre*. Rio Branco: Embrapa-CPAF-Acre, (Boletim técnico Nº152).
- Valetim, J.F.; Andrade, C.M.S; Feitoza, J.E.; Sales, M.G.; Vaz, F.A. (2002). *Métodos de introdução do amendoim forrageiro em pastagens já estabelecidas no acre*. Rio Branco: Embrapa-CPAF-Acre, (Boletim técnico Nº152).
- Van Soest, P.J. (1994). *Nutritional ecology of the ruminant*. 2.ed. Ithaca, NY: Cornell Univ. Press.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. (1985). *Analysis of forage and fibrous foods*. Lab Manual for Animal Science, 613. Dept. Animal Sci. Cornell University, Ithaca, NY., 202p.

- Vanzolini, S.; Nakagawa, J. (2005). Teste de condutividade elétrica em sementes de amendoim. *Revista Brasileira de Sementes*, 27(2): 151-158.
- Veira, M.T.S.; Freitas, R.W.A.; Melo, C.M.C. (1993). Superação da dormência de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong– Leguminosae. *Revista Brasileira de Sementes*, 15(2): 177-181.
- Velásquez, P.A.T. (2006). *Composição química, digestibilidade e produção de gases “in vitro” de três espécies forrageiras tropicais*. Jaboticabal: Unesp, 2006.. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. 66 p.
- Verzignassi, J.R.; Fernandes, C.D. (2002). *Estilosantes Campo Grande: Situação atual e perspectivas*. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2p. (Comunicado Técnico, 70).
- Vieira, M.G.G.C.; Von Pinho, E.V.R. (1999). Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de algodão. In: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D.; França-Neto, J.B. *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: Abrates, p.1-13.
- Vieira, R.D.; Carvalho, N.M. (1994). *Testes de vigor em sementes*. Jaboticabal: FUNEP, 164p.
- Vieira, R.D.; Carvalho, N.M.; Sader, R. (1994). Testes de vigor e suas possibilidades de uso. In: Vieira, R.D.; Carvalho, N.M. (Eds.). *Testes de vigor em sementes*. Jaboticabal: FUNEP, p.31-47.
- Vieira, R.D.; Krzyzanowski, F.C. (1999). Teste de condutividade elétrica. In: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R. D.; França Neto, J. B. (Ed.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, cap.4, p.4.1-4.26.
- Vieira, R.D.; Penario, A.L.; Perecin, D.; Panobianco, M. (2002). Condutividade elétrica e teor de água inicial das sementes de soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37 (9): 1333-1338.

- Vieira, R.D.; Scappa Neto, A.; Bittencourt, S.R.M.; Panobianco, M. (2004). Electrical conductivity of the seed soaking solution and soybean seedling emergence. *Scientia Agricola*, 61 (2): 164 -168.
- Vieira, R.D. (1994). Teste de condutividade elétrica. In: Vieira, R. D.; Carvalho, N.M. (Ed.) *Testes de vigor em sementes*. Jaboticabal: FUNEP, p.103-132.
- Vilela de Rezende, A.; Almeida, G.B.S.; Vilela, H.H.; Landgraf, P.R.; Nogueira, D.A.; Correa, V.R.S. (2007). Germinação de sementes de gramíneas misturadas ao adubo químico para plantio. In: CONGRESSO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS DA UFLA/NEFOR, 2, *Anais...*Lavras-MG, 1-3.
- Voisin, A. (1979) *Dinâmica das pastagens: devemos lavrar nossas pastagens para melhorá-las?* São Paulo: Editora Mestre Jou. 407 p.
- Walle, L.C.S.; Silva, J. M.; Schunke, R. M. (2001) Ganho de peso de bovinos em pastagens de *Brachiaria decumbens* pura e consorciada com *Stylosanthes* spp. cv. Campo Grande. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38. Piracicaba, SP. *Anais...* Piracicaba: SBZ 2001, 175-176.
- Wang, Y.; Nil, N. (2000). Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase–oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 75: 623–627.
- Weeda, W.C. (1969). The effect of cattle dung patches on pasture growth, botanical composition and pasture utilization. *New Zealand Journal of Agriculture Research*, Wellington, 10: 150-159.
- Wilson, G.P.M.; Hennessy, D.W. (1977). The germination of excreted kikuyu grass seed in cattle dung pats. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 88: 247-249.

- Yamada, T.; Kawaguchi, T. (1972). Dissemination of pasture plants by livestock. 2. Recovery, viability and emergence of some pasture plant seeds passed through the digestive tract of the dairy cow. *Journal of Japanese Society of Grassland Science*, 18: 8-15.
- Zhu, J.K. (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 53: 247–273.
- Zimmer, A.H.; Macedo, M.C.M.; Silva, M.C.M.; Gomes, M.P.; Candal, F. (2005). Estabelecimento de pastagens de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu consorciadas com estilosantes em diferentes taxas de semeadura e métodos de plantio. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42, Goiânia. *Anais...* Goiânia, SBZ, (CD-ROM).
- Zucareli, C.; Malavasi, M.M.; Fogaça, C.A.; Malavasi, V.C. (2001). Preparação e coloração de sementes de farinha seca (*Albizia hasslerii* (Chodat) Bur.) para o teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, 23(2): 186-191.
- Nascimento, W.M. (2000). Envolvimento do etileno na germinação de sementes. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Londrina, 12(Edição especial): 163-174.
- Souza, F.H.D.; Marcos-Filho, J. (2001). The seed coat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. *Revista Brasileira de Botânica*, 24(4): 365-375.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)