

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPIRITO SANTO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**FABIANA GONÇALVES DOS SANTOS BOLZAN**

**SOBREVIVÊNCIA E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *BRACHIARIAS spp.* SOB  
MASTIGAÇÃO SIMULADA, DIGESTÃO ÁCIDO ENZIMÁTICA E FERMENTAÇÃO  
*IN VITRO.***

**ALEGRE-ES**

**2017**

**FABIANA GONÇALVES DOS SANTOS BOLZAN**

**SOBREVIVÊNCIA E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *BRACHIARIAS spp.* SOB  
MASTIGAÇÃO SIMULADA, DIGESTÃO ÁCIDO ENZIMÁTICA E FERMENTAÇÃO  
*IN VITRO.***

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Reprodução e Nutrição Animal.

Orientador(a): Prof. Dr. Bruno Borges Deminicis

ALEGRE-ES

2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)

(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

Bolzan, Fabiana Gonçalves dos Santos, 1988-

B694c Sobrevivência e germinação de sementes de brachiarias spp., sob mastigação simulada, digestão ácido enzimática e fermentação in vitro / Fabiana Gonçalves dos Santos Bolzan. – 2017.

45 f. : il.

Orientador: Bruno Borges Deminicis.

Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Capim-braquiaria. 2. Fermentação. 3. Germinação. I. Deminicis, Bruno Borges. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. III. Título.

CDU: 619

---

**FABIANA GONÇALVES DOS SANTOS BOLZAN**

**SOBREVIVÊNCIA E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *BRACHIARIAS spp.* SOB  
MASTIGAÇÃO SIMULADA, DIGESTÃO ÁCIDO ENZIMÁTICA E FERMENTAÇÃO  
*IN VITRO.***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção de Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Reprodução e Nutrição Animal.

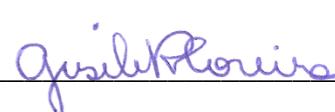
Aprovado em 22 de fevereiro de 2017.

**COMISSÃO EXAMINADORA**



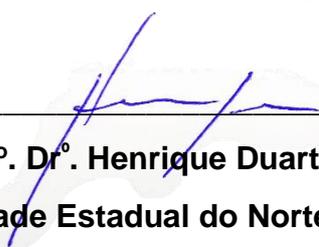
---

**Prof. Dr. Bruno Borges Deminicis**  
**Universidade Federal do Sul da Bahia**  
**Orientador**



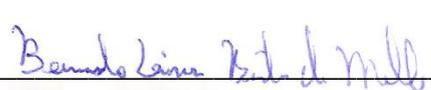
---

**Profª. Drª. Gisele Rodrigues Moreira**  
**Universidade Federal do Espírito Santo**



---

**Profº. Drº. Henrique Duarte Vieira**  
**Universidade Estadual do Norte Fluminense**



---

**Profº. Drº. Bernardo Lima Bento de Mello**  
**Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural**

*À minha filha Yasmin luz da minha vida.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus minha fortaleza.

A Universidade Federal do Espírito Santo por me possibilitar obter conhecimento.

A FAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Bruno Borges Deminicis pelos ensinamentos, orientação, compreensão, apoio e sobretudo pela amizade, fundamentais para conclusão deste trabalho.

Aos meus pais e familiares por me apoiarem, servindo-me de porto nos momentos de dificuldade, em especial meu sogro e sogra, meu irmão.

Ao meu esposo e filha de onde vem toda força para vencer.

A minha irmã de coração Karina que sempre está presente me dando força.

Aos professores que contribuíram com o engrandecimento dos meus conhecimentos. Ao Prof. Alberto Chambela Neto pelas sugestões.

Aos membros, DSc. Bernardo Lima Bento de Mello, Prof.<sup>a</sup> Gisele Rodrigues Moreira e Prof. Henrique Duarte Vieira componentes da banca examinadora, pela avaliação do trabalho, orientação e sugestões fornecidas.

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

Muito obrigada

## RESUMO

BOLZAN, F.G.S. **SOBREVIVÊNCIA E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE BRACHIARIAS spp. SOB MASTIGAÇÃO SIMULADA, DIGESTÃO ÁCIDO ENZIMÁTICA E FERMENTAÇÃO *IN VITRO***. 2017. 45p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2017.

Objetivou-se com este estudo analisar os efeitos da mastigação simulada, fermentação, digestão ácido-enzimática *in vitro*, e os efeitos dinâmicos destes, sobre a sobrevivência e taxa de germinação de sementes de quatro cultivares de *Brachiaria spp.* (*Marandu*, *MG5-xaraés*, *Basilisk* e *Ruziziensis*). Foram conduzidos quatro ensaios, o primeiro para observar o percentual de sementes danificadas pela mastigação simulada; o segundo, para verificar a taxa de germinação das sementes após mastigação; o terceiro para comparar a taxa de germinação após fermentação e digestão ácido enzimática, por meio de inoculação ruminal, ácido clorídrico e pepsina; e o quarto para verificar a taxa de germinação das sementes não destruídas após serem submetidas a mastigação simulada, fermentação e digestão ácido enzimática *in vitro*. Entretanto os tratamentos que simulam *in vitro* a passagem das sementes de *Brachiaria spp.*, no trato digestório de bovino causaram redução na germinação das sementes.

Palavras-Chave: *Brachiaria spp.* Fermentação. Germinação

## ABSTRACT

**BOLZAN, F.G.S. SURVIVAL AND SEED GERMINATION OF BRACHIARIAS spp. UNDER SIMULATED MASTIGATION, ENZYMATIC ACID DIGESTION AND IN VITRO FERMENTATION.** 2017. 45p. Dissertation submitted to the Graduate Program in Veterinary Sciences Centre of Agricultural Sciences, Federal University of Espírito Santo, Alegre, ES, 2017.

The objective of this study was to analyze the effects of simulated mastication, fermentation, acid-enzymatic digestion in vitro, and the dynamic effects of these on the survival and germination rate of four cultivars of Brachiaria spp. (Marandu, MG5-xaraes, Basilisk and Ruziziensis). Four trials were conducted, the first to observe the percentage of seeds damaged by simulated mastication; The second, to verify the seed germination rate after chewing; The third to compare the rate of germination after fermentation and enzymatic acid digestion, by means of ruminal inoculation, hydrochloric acid and pepsin; And the fourth to verify the germination rate of undestroyed seeds after undergoing simulated chewing, fermentation and enzymatic acid digestion in vitro. However, treatments that simulate in vitro the passage of Brachiaria spp. Seeds in the bovine digestive tract caused a reduction in seed germination.

Key-words: Brachiaria spp. fermentation. Germination

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	12
2.2.1. <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu .....	13
2.2.2. <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Xaraés ou MG5 .....	14
2.2.3. <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk .....	15
2.2.4. <i>Brachiaria ruzizensis</i> cv. Ruzi.....	16
2.3. Dispersão de sementes por endozoocoria .....	16
2.3.1 Sobrevivência de sementes após digestão por bovinos .....	18
2.2. Técnica da Fermentação <i>in vitro</i> e Digestão ácido enzimática .....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	23
3.1. Mastigação Simulada.....	23
3.2. Fermentação e Digestão ácido-enzimática <i>in vitro</i> .....	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	29
5. CONCLUSÕES .....	36
7. BIBLIOGRAFIA.....	37

## 1. INTRODUÇÃO

A dispersão de sementes por animais é fundamental e comum nas regiões tropicais do mundo todo. Este mecanismo ajuda a manter pastagens, bosques e florestas vivas e ricas em ambientes que, muitas vezes, sofreram degradação por uso indevido do solo e ou manejo inadequado.

Os herbívoros podem dispersar sementes que são ingeridas com as pastagens (FISCHER, POSCHOLD, BEINLICH, 1996; JANSEN, 1984) por meio da dispersão por endozoocoria que é a passagem através do trato digestório dos animais (JANSEN, 1982). Porém a introdução de sementes nas pastagens é influenciada por uma série de fatores (ALMEIDA et al., 2002), um deles é a dormência das sementes, estado em que a semente deixam de germinar mesmo quando há condições favoráveis para que isso ocorra (COSTA et al, 2010). A dispersão que os animais podem realizar pode promover escarificação das sementes beneficiando a germinação e superação da dormência (CARMONA, 1992).

Para avaliação da sobrevivência das sementes por endozoocoria tem sido utilizados diferentes métodos, in vivo, in situ e in vitro. Esta técnica vem sendo aperfeiçoada ao longo dos anos e tem possibilitado o estudo de diversos alimentos. Devem representar o mais próximo possível o processo de digestão que ocorre no animal (BERCHIELLI, GARCIA, OLIVEIRA, 2006). O objetivo é simular as condições normais do rumem, com atmosfera anaeróbica, temperatura de incubação constante e ph ótimo.

A compreensão dos mecanismos da dispersão de sementes, aliado ao conhecimento das características das forrageiras que se pode dispersar em determinadas áreas é uma ferramenta extremamente útil para a conservação e manutenção de áreas em equilíbrio, além da recuperação de áreas degradadas, principalmente as brachiarias que são muito utilizadas no Brasil pela sua resistência e boa produção, podem ser dispersas após passarem pelo trato digestório e ajudar a manter as pastagens.

O uso de bovinos como dispersores naturais de sementes para melhoria das pastagens, pode ser uma alternativa de melhoria das pastagens ou ao mesmo tempo. Portanto é necessário compreender mais profundamente a sobrevivência e o comportamento germinativo das sementes excretadas pelos ruminantes, afim de avaliar a dinâmica da difusão forragem-semente.

Desta forma, com este trabalho objetivou-se analisar a mastigação simulada, a fermentação e digestão ácido-enzimática *in vitro*, e os efeitos dinâmicos destes, sobre a sobrevivência e taxa de germinação de sementes de quatro cultivares de *Brachiaria spp.*

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.2. O GÊNERO BRACHIARIA

O Brasil ocupa posição de destaque mundialmente na produção de sementes de forrageiras, que teve aumento de 27 milhões de toneladas em 2010, para 50 milhões de toneladas em 2013 (ABRASEM, 2014). Das diversas espécies utilizadas, a *Brachiaria spp.* é a mais semeada (LANDERS, 2007).

A área em que as forrageiras ocupam no Brasil ocupa cerca de 117 milhões de hectares, sendo que 50% desta área é ocupada por *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex. A. rich.) Stapf., predominando marandu e xaraés (MACEDO et al., 2013). Estima-se no mercado de sementes que marandu e xaraés correspondam por 60% da produção de sementes e 53% das exportações (WITT et al, 2015).

Isto devido ao fato de se adaptarem muito bem a diversos sistemas de produção e condições edafoclimáticas (SANTOS FILHO, 1998), devido a excelente adaptação aos solos de baixa fertilidade, as gramíneas *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria humidicola* tem sido muito utilizadas na América Central e do Sul. No Brasil tem aumentado a capacidade de suporte das pastagens antes pouco produtivas (VALÉRIO, 2009).

O papel que as gramíneas desempenham é muito importante, principalmente do gênero *Brachiaria*, com boa cobertura do solo, aumento de carbono no solo, estruturação do solo. Destacam-se ainda na utilização com culturas anuais, como milho, milheto, sorgo, arroz, soja e girassol, dentre outras, em sistema *santa fé* (MACEDO, 2009).

A primeira espécie introduzida no Brasil foi a *B. decumbens*, em 1952 pelo Instituto de pesquisa agropecuário (IPEAN) em Belém do Pará (SERRÃO; SIMÃO NETO, 1971).

Após foi introduzida em São Paulo em 1960, um segundo genótipo da *B. decumbens* com melhor adaptação, a cultivar australiana *Basilisk* que permitiu melhor desenvolvimento da pecuária nacional. A partir daí foram introduzidas *B. ruzizensis*, *B. arrecta* e *B. humidicola* e outras espécies (PIZARRO et al., 1996).

As espécies mais utilizadas para formação de pastagens no Brasil são: *B. decumbens*, *B. brizantha*, *B. humidicola*, *B. ruzizensis*, *B. dictyoneura* (ALVIM, 2002).

A *Brachiaria* pertence a tribo Paniceae, com grande parte das espécies na África, mas com espécies distribuídas pelas regiões tropicais e subtropicais. As principais espécies forrageiras de importância econômica originárias da África são: *B. arrecta*, *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. dictioneura*, *B. humidicola*, *B. mutica* e *B. ruziziensis* (VALLE, 2009).

Baseando-se em estudos moleculares e morfológicos foi sugerida uma nova nomenclatura para algumas espécies que pertencem ao gênero *Brachiaria*, foram inseridas no gênero *Urochloa*, em alguns trabalhos já são utilizadas estas nomenclaturas. As *Brachiarias* gênero pantropical possuem mais de 100 espécies, *Urochloa* gênero paleotropical inclui cerca de 12 espécies, anteriormente classificadas como *Brachiaria* (GONZALEZ; MORTON, 2005).

O Brasil é maior consumidor e exportador mundial de sementes, neste sentido a qualidade é um fator que deve ter uma correta determinação que serve tanto para estabelecer o valor e para implantação. Diversos agentes interagem nesse processo de produção, que representa uma faturação anual de milhões de dólares e a manutenção de milhares de empregos. Apesar da importância econômica e social, a viabilidade das sementes produzidas pelas espécies deste gênero é variável e os investimentos em pesquisa nesta área são escassos (DIAS; ALVES, 2008).

A *Brachiaria decumbens* vem ganhando espaço entre os produtores principalmente do cerrado, por necessitar de pouco uso de insumos em pastagens cultivadas, já que o uso de insumos aumenta a produtividade. Estas se adaptam bem em solos de baixa fertilidade, razoável tolerância à seca, boa rebrota cobrindo o solo com eficiência (PAULINO; ALCÂNTARA; ALCÂNTARA, 2002).

### **2.2.1. *Brachiaria brizantha* cv. Marandu**

Originária de regiões vulcânicas da África, introduzida no Brasil por volta de 1976, cultivada por muito tempo em São Paulo. Esta planta tem hábito de crescimento cespitoso, de 1,5 a 2,5 metros de altura (NUNES et al., 1985), possui boa palatabilidade e boa tolerância a solos com drenagem ruim, resistente a solos com baixa fertilidade. Possui ainda bom valor nutricional, alta resistência cigarrinha das

pastagens, devido a estas qualidades teve boa aceitação no Brasil e passou a substituir pastagens degradadas de *Brachiaria decumbens* (SANTOS FILHO, 1998).

Essa gramínea tem bom desenvolvimento em altitudes, principalmente em regiões com precipitações pluviométricas entre 1.000 e 2.500 mm/ano, embora ainda produza em precipitações próximas a 700 mm. A cv. *marandu* apresenta produtividade alta e um bom valor nutritivo, esta cultivar além de adaptar-se muito bem a maioria dos solos tropicais ainda possui persistência em períodos de estiagem (COSTA et al., 2001; OLIVEIRA; MACHADO; POZO, 2006).

Após a semeadura o tempo de formação da cultivar *marandu* gira em torno de 90 a 120 dias. Para que não ocorra pisoteio excessivo os primeiros pastejos devem ser feito aos 90 dias, porém não se deve elevar a carga animal, pois o pasto ainda está em formação neste período. Este pastejo favorece o perfilhamento do capim pelas gemas laterais, aumentando assim, a ocupação do solo pela gramínea. Recomenda-se ainda a altura de entrada de 40 cm e saída de 15 a 10 cm em pastejo rotativo, enquanto em lotação continua estas alturas devem ser de 40 e 20 cm respectivamente (GIMENES et al., 2011). A *B. brizantha* cv. *Marandu* vem sendo muito utilizada em reformas de pastagens, substituindo pastagens naturais e *Panicum maximum* (colonião) devido à resistência a cigarrinha das pastagens e a boa produtividade (PAULINO; ALCÂNTARA; ALCÂNTARA, 2002).

Por ter muitos atributos a cultivar *marandu* tornou-se muito utilizada no Brasil, devido a este fato houve também um expressivo crescimento no mercado de sementes desde seu lançamento em 1983, representando atualmente 90% das sementes comercializadas no Brasil. Porém recentemente tem se observado mortalidade das plantas de até 90% devido ao manejo incorreto, a falta de água e o ataque de fitopatógenos como *Pythium perillum*, *Rhizoctonia solani* e *Fusarium sp.*, tem contribuído com a síndrome da morte de pastagens de braquiarião em diversas regiões do país (VERZIGNASSI et al. 2012).

### **2.2.2. *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés ou MG5**

O capim-xaraés ou MG5 é uma gramínea do gênero *Brachiaria* originário da África, vem expressando grande potencial produtivo. Possui crescimento cespitoso e

pode chegar até 1,5m de altura, em crescimento livre, colmos finos, indicado para regiões de clima tropical de cerrado, indicado para solos de média fertilidade (VALLE, et al., 2004).

Possui alta produtividade, rápida rebrota comparado aos outros tipos de forrageiras. O florescimento tardio é uma das suas principais características, o que possibilita maior tempo de pastejo pelos animais. Este cultivar é conhecido por proporcionar sua alta capacidade de suporte de animais, em razão de sua elevada produtividade por hectare que é de 20 a 25 t.MS/ha/ano. Também apresenta boa palatabilidade, digestibilidade e folhas largas. O pastejo deve ser feito de 90 a 120 dias após o plantio. Em pastejo rotativo deve ser manejado com entrada dos animais no piquete a 30 cm e saída a 15 cm de altura (CARLOTO et al., 2011).

A *B. brizantha* cv. xaraés ao contrário da cultivar marandu, possui alta tolerância ao ataque de fungos foliares como *Pythium* sp. E *Fusarium* sp., comum em solos úmidos, devido a presença de fungos endófitos do gênero *Hylodendron* no tecido foliar da cultivar xaraés (LASCANO et al., 2002).

A cultivar xaraés é uma excelente alternativa para monocultivos, pode ser cultivado em todos os estados das regiões de clima tropical úmido, indicado para regiões de clima tropical de cerrado com mais de 800 mm de chuvas por ano, e estações secas de até 5 meses (VALLE et al., 2004; VECHIATO; APARECIDO; FERNANDES, 2010).

### **2.2.3. *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk**

A *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk é originária da Uganda na África, caracteriza se por ser uma planta agressiva, e muito bem aclimatada, ajuda conter erosão, apresentando ainda boa digestibilidade e palatabilidade, com ciclo perene e habito de crescimento cespitoso. Esta planta possui porte baixo, podendo ser consorciada com algumas espécies (CRISPIM; BRANCO, 2002).

A cultivar Basilisk pode crescer até 60 cm, porém é indicado manter a altura de pastejo entre 40 e 20 cm, não se deve trabalhar com alturas acima destas citadas, porque este capim pode se tornar tóxico devido ao acúmulo de material morto. Isto possivelmente ocorre pelo fato da interação das saponinas com o fungo *Pythomyces chartarum*. Esta gramínea é perene, com touceira decumbente, digestibilidade e palatabilidade satisfatória. É muito sensível à cigarrinha das pastagens. Apresenta

produtividade de 15 a 20 t.MS/ha/ano, o que é suficiente para suportar entre 2 UA.ha-1.ano-1, e quando em diferimento durante todo o período seco suporta uma média de 3 UA/ha/ano (EUCLIDES et al., 2007; ROZALINO SANTOS et al., 2009).

#### **2.2.4. *Brachiaria ruzizensis* cv. Ruzi**

A *Brachiaria ruzizensis* é uma gramínea africana adaptada a diversos tipos de solos, desde arenosos a argilosos, porém, não tolera solos encharcados. Necessita de solos de média fertilidade. É bastante palatável para os animais e não apresenta nenhum fator tóxico (AUKAR, 2011).

É de fácil manejo, tendo como uma das principais características a floração tardia, o que favorece o tempo de pastejo. Produz de 14 a 15 t.MS/ha/ano e responde satisfatoriamente a adubação, constituindo assim uma produção que pode ultrapassar as principais gramíneas do gênero *Brachiaria*. Este cultivar adapta-se bem a climas tropicais úmidos e não tolera secas prolongadas, possui crescimento vigoroso, da alta palatabilidade e produtividade de matéria seca e da facilidade de sua formação, bem manejado, pode chegar a 3 UA/ha, entretanto é sensível a cigarrinha das pastagens (SILVEIRA et al., 2011). Com a utilização da rotação lavoura-pastagem, ser feita inoculação por *Trichoderma harzianum* sobre a palhada de *Brachiaria ruzizensis*, assim é possível verificar controle do mofo branco, que é causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* e que tem aumentado em culturas anuais, como soja, algodão, podendo se assim ter controle biológico aliado ao plantio das culturas (GORGEN, 2008).

### **2.3. Dispersão de sementes por endozoocoria**

A dispersão de sementes de acordo com Jansen (1970) é o processo em que a semente é carregada para outros locais distantes da planta de origem, podendo ser vantajoso para a planta, pois ocupará novos ambientes e reduzirá a taxa de mortalidade da espécie. Estas sementes podem sofrer influência de fatores do ambiente e ingestão por animais que são agentes bióticos, e podem atuar dispersando sementes. A dispersão é uma interação que ocorre entre animais e plantas podendo ter vários benefícios e envolver diferentes espécies com consequências ecológicas e

evolutivas (HERRERA e PELLMYR, 2002). Este processo pode ser influenciado pelas características do vetor e da semente, quando dispersa (NATHAN, 2008). Podendo ocorrer através de agentes bióticos (animais e a própria planta) ou abióticos (vento e água) (LEVIN et al, 2003).

A maneira em que a dispersão ocorre é que designa sua classificação. A dispersão que ocorre pelos animais é chamada de zoocoria que compreende endozoocoria :ocorre quando os animais ingerem as sementes e após são defecadas e vão germinar no ambiente (JANZEN, 1982), sinzoocoria: as sementes são carregadas por meio da boca do animal, epizoocoria: quando as sementes são carregadas acidentalmente, estas são umas das maneiras, existem ainda outras formas de atuação dos animais descritas (BOLD, 1988).

Os animais têm um papel ecológico a cumprir: trazem sementes de diferentes locais, aportam matéria orgânica, aumentam a biodiversidade local, propiciam estabilidade aos processos ecológicos e conferem auto sustentabilidade às atividades de recuperação de áreas degradadas (VALCARCEL; SILVA, 2000).

Algumas espécies de herbívoros (veado, corço, coelho e a lebre) foram avaliadas no Nordeste do Brasil em relação a capacidade de dispersão, concluindo-se que o veado possuiu maior importância na disseminação de sementes anuais quando relacionado com o corço. Ainda se destacou o coelho entre as quatro espécies com maior contribuição na dispersão (HITTORF e CORTEZ, 2013). Foram avaliadas ainda a dispersão de cinco leguminosas tropicais (*Pueraria phaseoloides*, *Neonotonia wightii*, *Calopogonium mucunoides*, *Macrotyloma axillare*) nas de fezes bovina, em pastagem já estabelecida de *Brachiaria decumbens*, no entanto não obteve-se altas taxas de germinação, observando-se maior germinação da espécie *Pueraria phaseoloides* (Almeida et al. 2015).

Jolaosho *et al.* (2006) ao recuperar sementes nas fezes de bovino, ovelhas e cabras pode-se verificar melhores taxas de germinação, ou seja, melhor eficiência em dispersar sementes para ovinos 28% e caprinos 32% e bovinos apresentaram com 5% de germinação, neste estudo foi associado a baixa taxa de germinação a técnica empregada.

A dispersão de sementes é um fator importante para biologia das plantas, a distância em que as sementes percorrem afeta a dinâmica das populações, a diversidade e a propagação de plantas invasoras (CAIN, MILLIGAN e STRAND, 2000).

Porém ainda há poucos estudos que enfatizam a dispersão de sementes de gramíneas por bovinos em pastagens, ainda sobre a proporção de sementes que permanecem viáveis após passagem pelo trato digestivo, a relação do tamanho das sementes com a germinação (LIMA, et al. 2014).

### **2.3.1 Sobrevivência de sementes após digestão por bovinos**

Os ruminantes domésticos podem ser considerados importantes vetores, porém para que as sementes se dispersem de maneira eficiente são necessários alguns passos envolvendo a ingestão de sementes, a passagem pelo trato digestivo, a germinação, as plântulas, o estabelecimento e a sobrevivência (JOLAOSHO et al., 2006).

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 em condições anaeróbias as enzimas proteolíticas e celulolíticas produzidas por bactérias agem no tegumento das sementes tanto no rúmen quanto no intestino grosso. Já no intestino delgado, as sementes são envolvidas por enzimas proteolíticas, amilolíticas e lipolíticas em meio ácido, as sementes são envolvidas em ácido (pH 2-5) (TEIXEIRA, 1997). Depois de serem eliminadas nas fezes, as sementes ainda encontram microorganismos potencialmente patogênicos que transformam os compostos orgânicos das fezes para forma inorgânica. Caso as sementes consigam germinar, as plântulas para se estabelecerem ainda têm que enfrentar as condições ambientais que podem ser adversas, como uma seca prolongada (GARDNER *et al.* 1993).

Várias características do trato digestório dos bovinos podem influenciar a sobrevivência das sementes desde os dentes, às bactérias e enzimas, o ideal então é que estas tenham um menor tempo de permanência no trato digestório (LIMA et al., 2014). Pois este processo de ingestão das sementes, pode causar danos a estas que pode ser benéfico ou não, por isso o tamanho das sementes pode ser um fator importante. Sementes menores e arredondadas tem maior chance de germinação após passar pelo trato digestório (PAKEMAN; DIGNEFFE; SMALL, 2002). Estas sementes esféricas e menores têm maior taxa de sobrevivência, pois tem menor chance de sofrerem danos de mastigação e por terem maior taxa de passagem (GARDNER; MCIVOR; JANSEN, 1993).

Esta escarificação que ocorre desde a passagem pela boca do animal até a saída nas fezes pode influenciara a sobrevivência de algumas espécies, podem sofrer ainda influência do tipo de alimento presente, estes fatores podem influenciar a capacidade das sementes serem dispersas por endozoocoria (TRAVESET; VERDÚ, 2002).

A atuação de vertebrados e invertebrados que causam a predação destas também podem influenciar a sobrevivência das sementes (GUZMAN; STEVENSON, 2011). Assim como água e temperatura (NAKAO; CARDOSO, 2010).

Sementes dormentes também podem ser uma das causas da diminuição da taxa de germinação, pois não irão absorver água porque seu tegumento duro dificulta a permeabilidade da água, de modo que a semente não germine (BRASIL, 2009). Este estado de dormência que as sementes podem apresentar mesmo em condições climáticas favoráveis, pode auxiliar os processos de degradação das pastagens brasileiras (LACERDA *et al.*, 2010).

A maioria das gramíneas forrageiras tropicais é afetada pela dormência das sementes, a qual pode dificultar a determinação da sua qualidade fisiológica e a emergência das plântulas no campo e o estabelecimento de pastagens (COSTA *et al.*, 2011). A dormência é um tipo de latência em que a ausência de germinação é causada por empecilhos localizados na própria semente. É imposta pela combinação de condições específicas do ambiente, provocando a interferência de um ou mais mecanismos de bloqueio, impedindo a transcrição da mensagem genética para a ativação da sequência metabólica que culmina com a germinação. Assim, os eventos iniciais após a embebição em sementes dormentes, dependem da informação genética já existente durante o período de maturação, ou seja, anteriormente ao início do repouso fisiológico (MARCOS FILHO, 2005).

A quebra de dormência pode ser feita ao se misturar as sementes com o sal mineral, colocadas no cocho, é uma forma fácil e de baixo custo. Os animais consomem as sementes, que sofrem processo de quebra de dormência no rúmen dos bovinos, e posteriormente são distribuídas nas pastagens junto com as fezes (VALENTIM; CARNEIRO, 1998). As fezes podem ser favoráveis ao desenvolvimento das sementes, dependendo da taxa de passagem, pois podem ser distribuídas em grande área, durante vários dias após ingestão (GOKBULAK, F; CALL, C, 2004). Este processo provoca um aumento na germinação das sementes (ROBLES *et al.*, 2005).

As sementes ao passarem pelo trato gastrointestinal e serem depositadas nas fezes ao longo do tempo há uma diminuição da germinação com algumas sementes germináveis até após três meses, podendo aumentar ou diminuir a germinação com armazenamento nas placas fecais, depende das condições ambientais (CARPINELLI et al., 2005).

Um dos fatores que atuam sobre as sementes podendo dificultar a germinação é a diminuição da umidade na placa fecal nas estações mais secas do ano. A taxa de sobrevivência das diferentes espécies pode variar de 2% a 5% após passarem pelo trato digestório dos bovinos (GARDENER; MCIVOR; ANNE JANSEN, 1993).

Essas fezes nas pastagens pode alterar o comportamento ingestivo dos ruminantes, podendo fazer com que estes rejeitem pastejar no entorno (CARVALHO et al., 2001). Os animais são seletivos, e é comum locais nas pastagens com maior frequência de desfolhação ou maior frequência de pastejo, devido a essa seletividade dos animais (CARVALHO et al., 2009). Os animais percorrem grandes áreas em pastejo, a distribuição das fezes se dá de modo heterogêneo, apresentando regiões distintas, dependendo da atividade do animal. Assim quando os animais estão em pastejo parte da defecação fica distribuída por toda pastagem, porém a maior parte da defecação ocorre nas áreas de ruminação e descaço (BRAZ et al., 2003).

As áreas onde há a presença das fezes 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 (DEMINICIS et al, 2009). 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).

A presença das fezes no solo pode auxiliar a germinação de sementes que não germinam e se mantém no solo podem germinar posteriormente (COSYNS et al., 2006).

Não há muitas informações sobre a distância que as sementes percorrem, ou como essas sementes sobrevivem. As sementes ainda passam junto com a ingesta e alguns atributos como a espessura do revestimento da semente e a dureza podem ser fatores que influenciem na taxa de sobrevivência destas, assim sementes com maior revestimento podem ficar dormentes (BRUUN; POSCHLOD, 2006).

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). Grande parte das sementes escapa a essa passagem e, em seguida, é dispersa em diferentes áreas. Desta forma, pode se introduzir uma ou mais espécies desejáveis em pastagens, disseminando sementes por um método natural, por meio da ingestão das sementes por bovinos (GARDENER, 1993).

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).

## **2.2. Técnica da Fermentação *in vitro* e Digestão ácido enzimática**

Existem vários métodos para determinação do valor da digestibilidade de alimentos utilizados na formulação de dietas para ruminantes (GONZÁLEZ et al., 1990; PEREZ, 1997; BERCHIELLI et al., 2006).

O método *in vivo*, é o método mais utilizado devido à complexidade para determinar a qualidade do alimento. Os animais são colocados em gaiolas, então é avaliado o alimento que o animal ingeriu e os nutrientes que são recuperados nas fezes, e calcula-se por diferença a Digestibilidade da matéria seca. (FIRMINO de SÁ et al, 2011).

Uma série de técnicas alternativas mais eficientes, simples, rápidas e de baixo custo vêm sendo desenvolvidas, para estimar a digestibilidade dos alimentos no rúmen, representando a digestão que ocorre no trato digestório do animal. Estas técnicas permitem a avaliação da resposta do animal a um fator ou a fatores relacionados e seu efeito. O procedimento *in vitro* de dois estágios para determinação do valor de digestibilidade de alimentos, que simula a digestão no abomaso, é usado como referência, é uma modificação do método tradicional proposto por Baumgardt, Taylor e Cason (1962) que consistia em 24 horas de incubação ruminal, é o método de referência que Tilley e Terry (1963) propuseram é o mais difundido e empregado em estudos de nutrição de ruminantes e vem sendo aperfeiçoado para se obter maior precisão e proximidade ao método *in vivo*, contudo, apesar de ser mais confiável

apresenta implicações como o custo, a quantidade de ração que pode estar presente em excesso, e o grande número de repetições (BERCHIELLI et al., 2006).

Esses procedimentos *in vitro* visam reproduzir o ambiente rumem-retículo, com ph de aproximadamente 6,9 e temperatura de 39°C, utiliza um líquido ruminal ou enzimas e presença de microorganismos (GOMIDE, 1974; HUNGATE, 1966). Essas técnicas foram possíveis de serem utilizadas após o uso de soluções tampão que é a saliva artificial proposta por McDougall, utiliza-se o líquido ruminal nas incubações e a solução tampão, com período de incubação de 48 horas (1948), que mantém um ph adequado e mantém incubações por mais tempo (LOPEZ, 2005).

Diversos autores sugerem o uso de fermentação *in vitro* de forma automatizada na determinação de valores de digestibilidade da matéria seca (TRAXLER et al., 1995; HOLDEN, 1999; MABJEESH et al., 2000; ADESOGAN, 2005). Wilman e Adesogan (2000) mostraram que o método tradicional, em que a incubação dos alimentos foi realizada em tubos individuais, determinou resultados com menores erros-padrão e coeficientes de variação que os observados no sistema automatizado de fermentação *in vitro*.

Em diversos trabalhos, valores de digestibilidade determinados em sistemas automatizados de fermentação foram superestimados (VOGEL et al., 1999; FIGUEIREDO et al., 2000; MABJEESH et al., 2000; SANTOS et al., 2000; WILMAN e ADESOGAN, 2000; DAMIRAN et al., 2002) ou subestimados (ADESOGAN, 2005) em relação aos obtidos de métodos tradicionais realizados em tubos individuais. Para que os sistemas *in vitro* sejam utilizados, devem ter as condições mais próximas possíveis do rúmen e do abomaso, capazes de representar o processo de digestão que ocorre *in vivo* (LOPEZ, 2005).

Os resultados de digestibilidade obtidos a partir de equipamentos automatizados de fermentação *in vitro* podem ser afetados por inúmeros fatores, dentre os quais se pode citar a potencial ocorrência de efeito associativo na digestão de amostras incubadas em um mesmo jarro de fermentação (ADESOGAN, 2005). WILMAN e ADESOGAN (2000) concluíram que o escape de compostos solúveis de amostras com elevadas concentrações destas substâncias poderia influenciar a população microbiana e, desta forma, aumentar a degradação da parede celular de alimentos com baixo teor destas substâncias e incubados no mesmo jarro de fermentação. No entanto, HOLDEN (1999) não constatou diferença estatística ( $P > 0,05$ ) nos valores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca de diferentes alimentos

volumosos e concentrados, quando incubados no mesmo jarro de fermentação ou em jarros de fermentação distintos.

O aperfeiçoamento dos métodos *in vitro*, que são utilizados para avaliação de degradação, tem permitido avaliar diversos alimentos, o processo de fermentação, uso de aditivos e suplementos. Estimar a digestibilidade é importante pois, permite avaliar fatores importantes como a disponibilidade dos nutrientes aos animais e o balanceamento de dietas (DETMANN et al., 2006).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido no Laboratório de Sementes e de bromatologia da UFES, em Alegre - ES, entre julho de 2015 e julho de 2016. Foram utilizadas as sementes das cultivares: *Brachiaria brizantha* cv. *Marandu*, *Brachiaria brizantha* cv. *Basilisk*, *Brachiaria brizantha* MG5, *Brachiaria ruziziensis* cv. *Ruziziensis*. As sementes foram adquiridas em junho de 2015, por doação.

#### 3.1. Mastigação Simulada

De acordo com metodologia descrita por Bonn (2004) e adaptada por Deminiciis et al (2012), foi realizado ensaio experimental para a avaliação do percentual de sementes destruídas pela escarificação que simula a mastigação por um bovino, com delineamento experimental inteiramente casualizado, utilizando 4 cultivares de *Brachiaria spp.* com 6 repetições com 50 sementes por repetição. As unidades experimentais foram as sementes.

Para simular a mastigação foi escolhido o método descrito por Bonn (2004), simulando uma tensão mecânica sobre as sementes. Para isso foi utilizada uma barra de ferro (Figura 1) com uma área de contato de 2 cm<sup>2</sup> e comprimento de 1,3 m, e uma pessoa com aproximadamente setenta quilogramas manteve a barra a noventa graus com o solo, girando-a noventa graus lateralmente e tencionando-a para baixo. A base fixa onde as sementes foram colocadas foi construída com uma estilha de madeira, um recipiente plástico, duas camadas de fita de borracha e um prego com cabeça (2cm), para simular o contato das sementes com a gengiva e os dentes de um bovino.

Para simular algum tipo de alimento, foram adicionados, ao recipiente plástico, aproximadamente 3 gramas de folhas de forragem picado à 2,5 cm.

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 (dez gramas) no recipiente plástico em uma única camada cobrindo a área de contato com as borrachas e a cabeça do prego e sobre elas, as 3g de forragem picada, sendo então as sementes mastigadas três vezes (3 rotações a 90° e pressão para baixo) com a barra de ferro encaixada sobre a forragem que cobria as sementes no recipiente plástico.

Todas as sementes contidas nos dez gramas utilizados foram previamente contadas e, após mastigação, foram separadas, contadas e pesadas. Permitindo que se chegasse ao valor percentual de sementes que não foram destruídas pela mastigação.

Na segunda etapa foi conduzido ensaio em delineamento experimental inteiramente casualizado, foram utilizadas as quatro cultivares de *Brachiaria spp.* com 6 repetições, para avaliar o comportamento germinativo das sementes intactas após mastigação. Para o tratamento mastigação, foi realizada a simulação da mastigação com posterior seleção de 50 sementes não destruídas, por repetição, para o teste de germinação.

Para a confecção do tratamento controle, foram escolhidas 50 sementes puras viáveis.

O teste de germinação foi realizado, de acordo com Brasil (2009), em câmara de germinação do tipo BOD com temperaturas de 20-35°C, com 12 horas de luz. As sementes foram colocadas para germinar em rolo de papel germiteste, umedecidos com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. A avaliação do teste de germinação (plântulas normais) foi realizada no 21º dia após a montagem do teste. A classificação das plântulas realizada de acordo com Brasil (2009), considerando normais as plântulas com todas as estruturas essenciais em perfeito desenvolvimento.

Ao final dos dois ensaios, pode-se chegar à porcentagem de sobrevivência (S%) das sementes pela fórmula:

$$S\% = (\% \text{ Intactas} \times G\% \text{ das sementes Intactas}) / 100.$$

Os resultados da germinação foram expressos em porcentagem, sendo submetidos a análise da variância, utilizando o teste de Tukey, a 5% de significância para a comparação das médias dos tratamentos.



Figura 1- Mastigação simulada das sementes. Fonte: Arquivo pessoal.

### 3.2. Fermentação e Digestão ácido-enzimática *in vitro*

Este estudo foi realizado em 2 etapas, utilizando o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 4 cultivares em 6 repetições, sendo utilizadas 50 sementes por repetição. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x3x1 (4 cultivares, nos tempos de 12 e 24 horas e um tempo zero).

No primeiro experimento, foi realizado estudo da germinação de sementes, sem passar por nenhum tratamento prévio, após fermentação *in vitro*.

Em síntese foram adicionados em erlenmeyer a solução com fezes bovina e as sementes, o CO<sub>2</sub> foi inoculado, então as sementes ficaram à temperatura de trinta e nove graus Celsius, nos tempos de doze e vinte e quatro horas. Após serem lavadas as sementes foram novamente acondicionadas nos erlenmeyer e foi realizada digestão ácido-enzimática nos tempos de doze e vinte e quatro horas. Após estes tempos as sementes foram para o teste de germinação.

No total foram utilizadas 50 sementes de cada cultivar, foram acondicionadas em cada erlenmeyer de 250 ml contendo 10 ml de solução FB, à temperatura de 39°C, ficaram nos tempos de fermentação: 12 e 24 horas. O CO<sub>2</sub> foi inoculado por cerca de 30 segundos, antes e após a adição do líquido ruminal.

A solução de FB composta de 200g de fezes/400mL de solução tampão, para simular a digestão no retículo – rúmex e omaso, à uma temperatura de 39°C e pH de 6,9 (SILVA et al, 2003 e DEMINICIS, 2012).

A solução tampão ou saliva sintética sugerida por McDougall (1948), é composta por 9,80 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, 9,30 g/L de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12H<sub>2</sub>O, 0,47g/L de NaCl, 0,57 g/L de KCl, 0,04 CaCl<sub>2</sub> anhyd, 0,06 g/L de MgCl<sub>2</sub> anhyd.

Foi utilizado o tempo zero, foram escolhidas 50 sementes intactas de cada cultivar, sementes que não passaram por nenhum tratamento experimental e foram levadas para o teste de germinação em BOD (12 horas de luz) à 25 °C, onde permaneceram durante 10 dias.

Ao término dos períodos de fermentação, os erlenmeyers foram drenados e as sementes lavadas no próprio erlenmayer, cinco a seis vezes com água destilada. Sequencialmente as sementes foram levadas para a digestão ácido-enzimática.

Na digestão ácido-enzimática as sementes (50 de cada repetição por cultivar) que passaram pela fermentação *in vitro*, foi adicionado 40 ml de HCL a 6N e 8 g de pepsina (DEMINICIS, 2012). A pepsina foi previamente dissolvida em 34 ml de água destilada a 35°C por cinco minutos em agitador, mantendo-se o pH entre 2,0 e 3,0 (HOLDEN, 1999). O CO<sub>2</sub> foi inoculado e as sementes permaneceram por 12 e 24 horas em solução.

Após o término da digestão ácido-enzimática foi realizado o teste de germinação, utilizando as 50 sementes de cada repetição que passaram pela digestão ácido-enzimática, foram colocadas em papel germiteste umedecidos com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel e levadas para câmara de germinação tipo BOD, com temperatura de 20 a 35°C, com 12 horas de luz.

A avaliação do teste de germinação (plântulas normais) foi realizada no 10º dia após a montagem do teste. Foram determinadas as porcentagens de germinação e dureza de cada cultivar em cada tempo de fermentação.

No segundo experimento foi realizado estudo da germinação de sementes não destruídas, obtidas após mastigação simulada e fermentação *in vitro*. Em cada tubo, as sementes foram incubadas à 39° C com fezes bovinas (FB) (diluição 200g de fezes/400mL de tampão), simulando a digestão no retículo – rúmex e omaso, e pH de 6,9 (SILVA et al, 2003 e DEMINICIS, 2012), sendo esta solução descrita como Solução FB equivalente ao líquido ruminal rotineiramente utilizado.

As sementes foram acondicionadas nos erlenmeyers de 250 ml contendo 10 ml de solução FB, à temperatura de 39 °C. Os tempos de fermentação foram: 12 e 24 horas. 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 e dureza de cada espécie/cultivar em cada tempo de fermentação.

Na terceira fase foi realizado estudo da germinação de sementes não destruídas ou “intactas” obtidas após mastigação simulada, fermentação e digestão ácido enzimática *in vitro*. Na qual foram realizadas: Mastigação simulada seguindo a mesma metodologia descrita anteriormente, selecionando-se 50 sementes de cada cultivar que não foram destruídas. Após selecionar as 50 sementes que não foram destruídas pela mastigação simulada, estas sementes (50 de cada cultivar com 6 repetições por cultivar) seguiram para fermentação e digestão ácido-enzimática *in vitro*, seguindo os mesmos passos anteriormente descritos, nos tempos de 12 e 24 horas.

Após serem drenadas e lavadas com água destilada nos erlenmeyers, as sementes seguiram para o teste de germinação, para avaliação após 10 dias das sementes que germinaram. Foram avaliadas então quanto a dureza e germinação.

Os resultados obtidos nos testes de germinação foram transformados em  $\sqrt{x/100}$  para normalização dos dados, e submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5% para comparação das médias, utilizando o programa Sisvar (FERREIRA, 2000).



Figura 2- Fermentação “*in vitro*” das sementes.

Fonte: Arquivo pessoal.



Figura 3- Germinação das sementes em papel germiteste após 12 horas em fermentação *in vitro* e digestão ácido enzimática.

Fonte: Arquivo pessoal

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 Para % de sementes não destruídas, não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre as cultivares de *Brachiaria*.

Tabela 1. Porcentagem de sementes não destruídas pela mastigação simulada (MS).

Espécie – Cultivar	Marandu	MG5-Xaráes	Basilisk	Ruziziensis	CV%
% Sementes Ñ destruídas	69,51a	77,98a	71,35a	85,19a	13,44

% de sementes que não foram destruídas após passar pela mastigação simulada.

Tabela 2. %Germinação (%G) e %dormência (%D) das sementes antes e após mastigação simulada (MS).

Espécie – Cultivar	Marandu	MG5-Xaráes	Basilisk	Ruziziensis	CV%
%D controle <sup>1</sup>	45,00Aa	39,00Ab	34,00Ab	29,83Ac	19,05
%D após MS <sup>2</sup>	39,67Ba	39,00Aa	28,83Bb	29,83Ab	16,09
%G controle <sup>3</sup>	40,00Ab	60,00Aa	61,00Aa	60,50Aa	21,60
%G após MS <sup>4</sup>	22,33Bbc	15,67Bc	30,67Ba	28,66Bb	33,60

% D controle<sup>1</sup> = sementes antes da mastigação simulada, sem tratamento.

%D após MS<sup>2</sup>= % de sementes que após a mastigação simulada permaneceram dormentes.

%G controle<sup>3</sup>= %de germinação das sementes controle.

%G após MS<sup>4</sup>= % de germinação das sementes que passaram pela mastigação simulada.

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna (comparação entre as sementes controle antes e após a mastigação simulada em relação a dormência e germinação) e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Um dos fatores que pode influenciar a porcentagem de sementes que não são danificadas pelo teste de mastigação simulada é a espécie (MORAES et al. 2017). Cada espécie tem características e particularidades como tamanho, formato das sementes e quantidade que pode facilitar a sobrevivência (ALMEIDA et al. 2015).

Ao passarem pelo trato digestório ou mesmo pela simulação da passagem por este, um considerável número de sementes podem permanecer viáveis (SIMÃO NETO et al., 1987; GARDENER et al., 1993; MACHADO et al., 1997; BRAY et al., 1998).

Na tabela 2 Em relação a porcentagem de sementes controle dormentes (%D controle), ao comparar as cultivares, a cultivar marandu obteve maior porcentagem de sementes dormentes em relação as demais, já a cultivar ruziziensis com menor

quantidade sementes dormentes e entre as MG-5 Xaraés e Basilisk não houve diferença estatística.

A porcentagem de sementes dormentes que passaram pela mastigação simulada (%D após MS) também houve diferença significativa com maior porcentagem de sementes dormentes para Marandu, porém não diferiu da cultivar MG5-Xaraés, e entre a cultivar basilisk e a ruziensis e não houve diferença significativa.

Ao comparar a porcentagem de sementes dormentes em cada cultivar, houve diferença estatística para as cultivares marandu e basilisk, com maior % de sementes viáveis para as sementes que passaram pela mastigação simulada. Porém as cv. MG5 e ruziensis não houve diferença estatística entre as sementes controle e as que passaram pela mastigação simulada.

Ao ponderar sobre a porcentagem de germinação das sementes controle (G% controle) pode-se observar que houve diferença significativa ( $p < 5\%$ ), entre as cultivares, entretanto não foi verificada diferença entre as MG5, basilisk e ruziensis, com maiores porcentagens de sementes que germinaram. A cultivar marandu apresentou diferença quando comparada com as demais, apresentando menor percentual de sementes que germinaram.

Ao avaliar porcentagem de germinação após a mastigação simulada, observou-se diferença estatística entre as cultivares, com maior taxa de germinação para basilisk, e menor MG5 xaraés, não havendo diferença entre marandu e ruziensis.

Pariz et al (2010) ao avaliar a qualidade fisiológica de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. marandu e *Brachiaria ruziensis* em teste de germinação e viabilidade em papel germiteste, porém sem passar por tratamento, com avaliações quanto a taxa de germinação após 7 e 21 dias, teve como resultados melhores taxas de germinação na cv. marandu, e menor na cv. ruziensis. Contudo, observa-se na tabela 1, que sem passar pela mastigação simulada a taxa de germinação da cultivar Marandu não foi a maior, e não apresentando diferença estatística após a mastigação simulada.

Avaliando a porcentagem de germinação das sementes controle e as sementes que receberam tratamento da mastigação simulada em cada cultivar e foi feita comparação da diferença significativa entre as sementes controle e as sementes que passaram pela mastigação simulada. As sementes controle tiveram maior porcentagem de germinação em relação as sementes que passaram pela mastigação simulada.

Na tabela 3 estão dispostos os resultados da germinação e dormência/dureza das sementes controle e após fermentação/digestão ácido enzimática *in vitro* por 12 e 24 horas.

Tabela 3. % de Germinação (G%) e % de dormência (%D) de sementes de *Brachiaria spp.* antes (tempo zero) e após fermentação mais digestão ácido enzimática *in vitro* por 12 horas (12 FD) e após fermentação mais digestão ácido enzimática *in vitro* por 24 horas (24 FD).

Espécie - Cultivar	Marandu	MG5-Xarás	Basilisk	Ruziziensis	CV%
% D tempo Zero <sup>1</sup>	45,00Aa	39,00Aab	34,00Ab	29,83Ac	19,05
%D após 12 FD <sup>2</sup>	42,35Aa	39,00Aab	34,00Ab	28,90Ac	12,36
%D após 24 FD <sup>3</sup>	39,33Ba	36,00Ab	34,00Ab	26,00Ac	7,05
% G tempo Zero <sup>4</sup>	40,00Ab	60,00Aa	61,00Aa	60,50Aa	21,60
% G após 12 FD <sup>5</sup>	24,30Bb	24,80Bb	35,20Ba	32,50Ba	14,75
% G após 24 FD <sup>6</sup>	4,30Ca	4,80Ca	5,20Ca	2,50Ca	33,95

%D tempo zero<sup>1</sup> = sementes sem tratamento.

%D após 12 / 24 horas<sup>2 3</sup> = % de sementes que após fermentação mais Digestão ácido-enzimática simulada permaneceram dormentes.

% G tempo Zero<sup>4</sup> = % de germinação das sementes que não passaram por tratamento.

%G controle<sup>3</sup>= %de germinação das sementes controle.

%G após 12 FD<sup>5</sup>= % de germinação das sementes após 12 de fermentação mais digestão ácido-enzimática.

%G após 24 FD<sup>6</sup>= % de germinação das sementes após 24 de fermentação mais digestão ácido-enzimática.

Médias seguidas pela mesma letra Maiúscula na Coluna (comparação das sementes entre tempo zero e após fermentação e digestão ácido-enzimática) e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Não houve diferença estatística entre MG5 e Basilisk, após 12 horas de digestão ácido enzimática, as cultivares Marandu e MG5 não diferiram estatisticamente e obtiveram maior taxa de sementes dormentes, então tem-se a cultivar ruziziensis com menor quantidade de sementes dormentes após este período de incubação, entre MG5 e basilisk não houve diferença estatística. Após 24 horas obteve-se na marandu maior quantidade de sementes dormentes e demais iguais ao teste anterior.

Ao comparar % de sementes dormentes que não receberam tratamento (controle) com as sementes que receberam tratamento (fermentação mais digestão após 12 e 24 horas), em cada cultivar (tabela avaliada na vertical), houve diferença significativa ( $p < 5\%$ ), na cultivar Marandu com maior quantidade de sementes

dormentes no lote controle e após 12 horas. Já as outras cultivares não houve diferença estatística com ou sem tratamento.

A dormência das sementes é um dos fatores que pode afetar a germinação das sementes, além desse fator a disponibilidade de água, temperatura, pH do substrato, oxigênio, luz, maturidade fisiológica, entre outros, são condições intrínsecas e extrínsecas (PEREIRA et al., 1995). As diferentes espécies de gramíneas apresentam particularidades em relação a dormência e suas causas, que podem ocorrer isoladas, combinadas ou simultaneamente (TOLEDO; CHAMMA; NOVEMBRE, 1995).

Foi verificada a diferença significativa ( $p < 5\%$ ), da % de germinação para o tratamento no tempo zero. A cultivar *marandu* apresentou menor quantidade de sementes que germinaram em relação as demais, porém não houve diferença significativa entre as sementes controle MG5-xaraés, ruziziensis e basilisk. Após 12 horas houve diferença significativa entre as cultivares, com maiores quantidades de sementes que germinaram para as cultivares basilisk e ruziziensis, porém não havendo diferença significativa entre estas. Já após 24 horas não houve diferença significativa entre as espécies.

Para as cultivares em relação a porcentagem de germinação no tratamento controle, após 12 horas e após 24 horas, houve diferença significativa ( $p < 5\%$ ), com maior taxa de germinação das sementes controle. Porém a porcentagem germinação após 12 e 24 horas da cultivar ruziziensis não houve diferença estatística. De acordo com Martins e Silva (2003) a *Brachiaria brizantha* apresenta, além de desuniformidade na maturação e na degrana, apresenta dormência nas sementes cuja natureza, intensidade e persistência não estão suficientemente esclarecidas.

Todavia, Rezende et al, (2007) ao avaliar sementes de *estilosantes* do cultivar Campo Grande que foram com que foram misturadas ao sal mineral ofertadas a bovinos, e misturadas em sal e imediatamente semeadas, foi possível notar que quando as sementes passaram pelo trato digestório dos animais nos tempos 0,24,48,72 e 96 tiveram melhores porcentagens de germinação, já que foi avaliado até 168 horas, inclusive melhor que o tratamento testemunha, isto pode ser devido aos ácidos presentes no trato digestório e a variação de pH, que causam escarificação.

Ao avaliar 20 espécies de sementes em pastagens ibéricas centrais em experimento que simulou a passagem pelo trato digestório de ruminante, quinze espécies (*Anthemis arvensis*, *Alyssum granatense*, *Andryala integrifolia*, *Brassica*

*barrelieri*, *Campanula rapunculus*, *Chamaemelum mixtum*, *Filago lutescens*, *J. montana*, *L. stoechas*, *Ornithopus compressus*, *Petrorhagia nanteuillii*, *Plantago coronopus*, *Silene gallica*, *Spergularia purpurea* e *Tolpis barbata*) tiveram maior germinação das sementes controle do que no tratamento simulando a ingestão por ovelhas. Para *B. barrelieri*, *C. rapunculus*, *F. lutescens*, *S. gallica* e *L. stoechas*, o tratamento produziu uma diminuição na velocidade de germinação, enquanto que para *S. purpurea* e *P. lanceolata*, o tratamento aumentou a velocidade de germinação.

Na tabela 4, pode-se verificar que entre as cultivares houve diferença significativa para porcentagem de sementes dormentes controle, com maior porcentagem de dormentes na cv. Marandu, sem diferença estatística entre a cv. MG5 e a cv. basilisk.

Tabela 4. Germinação (G%) e dormência/dureza (%D) de sementes de gramíneas forrageiras tropicais antes (controle), após mastigação simulada (MS), Fermentação e digestão ácido-enzimática *in vitro* por 12 horas (12 FD); Fermentação e digestão ácido-enzimática *in vitro* por 24 horas (24 FD).

Espécie - Cultivar	Marandu	MG5-Xarões	Basilisk	Ruzizensis	CV%
% D tempo Zero <sup>1</sup>	45,00Aa	39,00Bab	34,00Ab	29,83Ac	19,05
%D após MS e 12 FD <sup>2</sup>	39,75 Ba	37,25Bb	34,00Ab	21,00Bc	13,23
%D após MS e 24 FD <sup>3</sup>	38,10Bc	36,00Ba	34,00Aab	20,90Bbc	6,86
% G tempo Zero <sup>4</sup>	40,00Aa	60,00Aa	61,00Aa	60,50Aa	21,60
% G após MS e 12 FD <sup>5</sup>	23,00 Bc	23,73Bc	30,15Ba	28,00Bb	10,41
% G após MS e 24 FD <sup>6</sup>	1,20Ca	1,50Ca	1,10Ca	0,60Ca	23,98

%D tempo zero<sup>1</sup> = sementes sem tratamento.

%D após 12 / 24 horas<sup>2 3</sup> = % de sementes que após mastigação, fermentação mais Digestão ácido-enzimática simulada permaneceram dormentes.

% G tempo Zero<sup>4</sup> = % de germinação das sementes que não passaram por tratamento.

%G após 12 / 24 FD<sup>5 6</sup> = % de germinação das sementes após 12 e 24 horas de mastigação, fermentação mais digestão ácido-enzimática.

Médias seguidas pela mesma letra Maiúscula na Coluna (comparação das sementes dormentes entre tempo zero e após fermentação e digestão ácido-enzimática) e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para a porcentagem de sementes dormentes após mastigação simulada (MS) e fermentação e digestão ácido enzimática *in vitro* (FD) com 12 horas de incubação houve diferença estatística, com maior taxa de dormentes para a cv. marandu e menor para a cv. ruzizensis, não havendo diferença entre MG5 e basilisk. Foi observado que

com 24 horas de incubação houve diferença estatística com maior taxa de sementes dormentes na cv. marandu, porém não houve diferença entre MG5 e basilisk, e a cv. ruzizensis teve menor taxa de sementes dormentes. Lisboa et al (2009) ao recuperar sementes de *capim annoni-2* (*Eragrostis plana*) em fezes bovinas de 7,2% das sementes recuperadas 3,1% de sementes fornecidas, eram viáveis, o curto tempo de permanência das sementes no trato digestório dos animais é fundamental para sobrevivência e viabilidade das sementes.

A maior taxa de germinação ocorreu para as sementes controle, com diferença estatística entre os tratamentos (controle, 12 e 24 horas). Porém não houve diferença significativa na porcentagem de germinação entre as cultivares no tratamento controle. Após 12 horas a cv. Basilisk obteve maior taxa de germinação, diferenciando-se das outras cultivares, não havendo diferença significativa ( $p < 5\%$ ), para cv. Marandu e MG5-Xaraés. Porém após 24 horas não houve diferença significativa entre as cultivares.

Após 24 horas a porcentagem de germinação foi menor em relação a % de germinação 12 horas em ambas as tabelas 2 e 3. Esta redução da germinação pode ter diferentes causas, pois o processo digestivo pode ser um meio estressante as sementes, similar a testes de ``envelhecimento artificial`` de sementes com altas temperaturas e umidade relativa, causando menor porcentagem de germinação e vigor (FERREIRA et al. 2004).

Blackshaw e Rode (1991) avaliaram o efeito da ensilagem e passagem de sementes através do rúmen, sobre a germinação e viabilidade das sementes, observaram que sementes da erva daninha *Brome Downy* (*Bromus tectorum L.*), a grama *Foxtail* (*Setaria*) e a grama *Barnyardgrass* (*Echinochloa*) não foram viáveis após digestão por 24 horas em ambiente ruminal. Porém 17% da grama *Foxtail* sobreviveram.

Segundo Katovich, Bercker e Doll (2005), o processo de fermentação que ocorre no rúmen dos bovinos, diminui a taxa de viabilidade das gramíneas. Porém Robles e Castro (2002) afirma que a passagem pelo trato digestório de bovinos pode causar uma escarificação ácida por ação das enzimas e ácido que atuam sobre as sementes, e assim aumenta a taxa de germinação, ainda as sementes que permanecem sem germinar são importantes para formar um banco de sementes no solo (ROBLES; CASTRO, 2002). Diferentemente do ocorrido neste estudo.

Contudo Bakker e Olf (2003) concluíram que o papel do bovino como dispersor é muito importante, relataram um número de germinação muito maior em fezes bovinas do que em papel, provando que por possuírem nutrientes as fezes bovina podem ser um ambiente favorável. De acordo com Melado (2002) o gado excreta por dia cerca de 24 kg de fezes, a adubação orgânica que os animais promovem é uma opção muito viável para que obtenha uma pastagem ecológica, isto é muito importante pois áreas degradadas podem ser recuperadas com auxílio destas fezes e outras medidas.

Os resultados indiretamente alertam sobre impactos ambientais do gado em áreas de preservação, pois as sementes podem sobreviver *in vitro* e possivelmente *in vivo*, são necessários novos experimentos já que são escassos os trabalhos com as cultivares de *Brachiaria spp.*

O coeficiente de variação das cultivares apresentados nas tabelas 1, 2, 3 e 4, não foram possíveis de serem comparados, pois não haviam estudos de *Brachiaria spp.*, passando por processos de mastigação e digestão simulados *in vitro*.

## 5. CONCLUSÕES

As técnicas de mastigação, fermentação e digestão ácido enzimática *in vitro* demonstram os possíveis danos que as sementes podem sofrer ao serem ingeridas pelos bovinos. As sementes de *Brachiaria spp*, podem sobreviver a passagem à mastigação simulada, fermentação e digestão ácido-enzimática *in vitro*, entretanto o tratamento causou redução na germinação das sementes.

## 7. BIBLIOGRAFIA

ADESOGAN, A.T. **What are feeds worth? : A critical evaluation of selected nutritive values methods.** In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 13, University of Florida, 2002.

\_\_\_\_\_. Effect of bag type on the apparent digestibility of feeds in ANKOM Daisy<sup>II</sup> incubators. **Animal Feed Science Technology.** University of Florida, v.119, p.333-344, 2005.

ALMEIDA, R.G.; NASCIMENTO JUNIOR, D.; EUCLIDES, V.P.B Produção animal em pastos consorciados sob três taxas de lotação, no cerrado. **Revista brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, 2002.

ALMEIDA, J.C.C.; SILVA, T.O.; NEPOMUCENO, D.D.; Dispersão e persistência de leguminosas forrageiras tropicais após ingestão por bovinos. **Bioscience Journal**, vol.31, p. 867-874, 2015.

ALVIM, M.J.; BOTREL, M.A.; XAVIER, D.F. As principais espécies de Brachiaria utilizadas no País. Juiz de Fora: **Embrapa Gado de Leite**, 2002. 4p. Comunicado técnico, 22.

AUKAR, M.C.M. **Rendimento de sementes de milho, de adubos verdes e de massa de Brachiaria ruziziensis, em cultivo consorciado.** 2011. 68. Dissertação de Mestrado – UNOESTE, Dourados, MS, 2011.

AYRES, J.F. Sources of error with in vitro digestibility assay of pasture feeds. **Grass and Forage Science.** v.46, p.89-97, 1991.

BAKKER, E. S.; OLFF, H. Impact different-sized herbivores on recruitment opportunities for subordinate herbs in grasslands. **Journal of vegetation Science**, p. 465-474. 2003.

BERCHIELLI, T.T.; GARCIA, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Principais técnicas de avaliação em estudo de nutrição.** In: BERCHIELLI, T.T.; VAZ PIRES, A.; OLIVEIRA, S.G. (Eds.). Nutrição de ruminantes. 2 ed. Jaboticabal: Funep, 2006. Cap.14.

BAUMGARDT, B.R.; TAYLOR, M.W.; CASON, J.L. Evaluatin of forages in the laboratory. II. Simplified artificial rumem produced for obtaining repeatable estimates of forage nutritive value. **Journal of dairy Science**, v.45, n.1, p.62-68, 1962.

BLACKSHAW, R.E.; RODE, L. M. Effect of ensiling and rumen digestion by cattle on weed seed viability. **Weed Science**, v.39, n.1, p.104-108, 1991.

BLUME, R.R. Parasites of Diptera associated whith bovine droppings on a pasture in east central Texas. **Southwestem Entomologist**, v.11, n. 3, p.215-22, 1984.

BOLD, H.C. **O reino vegetal.** São Paulo: Edgard Bluncher. 1988. 189 p.

BONN, S. **Dispersal of plants in the Central European landscape - dispersal processes and assessment of dispersal potential exemplified for endozoochory.** 2004 (Dissertation) (Doktorgrades der Naturwissenschaften). Universität Regensburg. Stuttgart, Germany. 2004.

BRASIL. **Regras para análise de sementes.** Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento- MAPA, secretaria de defesa agropecuária, Brasília, p.155, 2009.

BRAY, S.G. et al. **Can cattle spread giant rat's tail grass seed (*Sporobolus pyramidalis*) in their feces?** 1998. Disponível em: <<http://www.regional.org.au/au/asa/1998/6/030bray.htm>> Acesso em: 4/4/2016.

BRAZ; S.P.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; CANTARUTTI, R.B. Caracterização da distribuição espacial das fezes por bovinos em uma pastagem de *Brachiaria decumbens*. **Revista Brasileira de zootecnia**, v.32, n.4, p. 787, 2003.

BRUUN, H.H.; POSCHLOD, P. Why are small seeds dispersed through animal guts: large numbers or seed size per se? **Oikos**, p. 402-411. 2006.

CAIN, M.L.; MILLIGAN, B.G.; STRAND, A.E. Long-distance seed dispersal in plant populations. **American journal of botany**, v.87, n. 9, 2000. Disponível em: <<http://www.amjbot.org/content/87/9/1217.full.pdf+html>>. Acesso em: Dez de 2015.

CARLOTO, M.N.; EUCLIDES, V.P.B.; MONTAGNER, D.B.; Desempenho animal e características de pasto de capim-xaraés sob diferentes intensidades de pastejo, durante o período das águas. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.46, n.1, p.97-104, 2011.

CARMONA, R. Problemática e manejo de bancos de sementes de invasoras em solos agrícolas. **Planta daninha**, v.10, p.5-16, 1992.

CARPINELLI, M. F. et al. Effect of ruminal incubation on perennial pepperweed germination. **Rangeland Ecology e Management**, 632-636, 2005. Disponível em: <<http://www.bioone.org/doi/10.2111/04-150R2.1>>. Acesso em: out de 2015.

CARVALHO, N.M; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia produção.** 4<sup>o</sup> ed. FUNEP. Jaboticabal, p. 170. 2000.

CARVALHO, P.C.F.; MEZZALIRA, J.C.; FONSECA L. Do bocado ao sítio de pastejo: manejo em 3D para compatibilizar a estrutura do pasto e o processo de pastejo. In: SIMPÓSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS, 7. 2009, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2009. p.1.

CARVALHO, P.C.F. *et al.* Importância da estrutura da pastagem na ingestão e seleção de dietas pelo animal em pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ, 2001. p. 883-871.

CATTS, E.P. and M.L. GOFF, M.F. Forensic entomology in criminal investigations. **Annual Reviews Entomology**, Washington v.37: 253-72, 1992.

CRISPIM, S. M. A.; BRANCO, O. D. **Aspectos gerais das brachiarias e suas características na sub região da Nhecolândia, Pantanal, MS.** EMBRAPA, p.10-11, 2002.

CORREIA, N. M.; FUZITA, W. E.; DANIEL, B. Cultivo consorciado de milho com amendoim forrageiro e calopogônio e os efeitos na cultura da soja em rotação. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 33, n. 2, p. 575-586, 2012.

COSTA, P. A.; LIMA, A. L. S.; ZANELLA, F.; FREITAS, H. Quebra de dormência em sementes de *Adenanthera pavonina* L. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 40, n. 1, p. 83-88, 2010.

COSTA, C.J.; ARAÚJO, R.B.; VILLAS BÔAS, H.D.C. Tratamentos para a superação de dormência em sementes de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, n. 4, p. 519-524, 2011.

COSTA et al. **Manejo de pastagens de Brachiaria brizantha cv. Marandu em Rondônia.** Porto Velho: EMBRAPA Rondônia, 2001(Recomendações técnicas, n.33).  
COSYNS, E. et al. Seedling establishment after endozoochory in disturbed and undisturbed grasslands. **Basic and applied ecology**, Belgium, p. 360-369. 2005.

DAMIRAN, D.; Del CURTO, T.; BOHNERT, D.W. Comparison of techniques and grind size to estimate digestibility of forage base ruminant diets. *Animal feed science and technology*, Colorado. v. 141, p.341-344, 2002.

DEMNICIS, B. B. et al. Germinação de sementes em placas fecais bovinas. **Arquivos de Zootecnia**, v. 58, n. 22, p. 73-8, 2009.

\_\_\_\_\_ et al. Mastigação simulada e digestão ácido-enzimática de sementes de leguminosas forrageiras tropicais. **Arquivos de Zootecnia**, v.61, n.235, p.387-396. 2012.

DETMANN, E. et al. Estimação da digestibilidade do estrato etéreo em ruminantes a partir dos teores dietéticos: desenvolvimento de um modelo para condições brasileiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, 2006.

DIAS, M.C.L.L. e ALVES, S.J. Avaliação da viabilidade de sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich) Stapf pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.3, p. 145-151. 2008.

EUCLIDES, V.P.B.; FLORES, R.F., MEDEIROS, R.N.; OLIVEIRA, M.P. Diferimento de pastos de braquiária cultivares Basilisk e Marandu, na região do Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.2, p.273-280, 2007.

FERREIRA, D.F. **Sistema de análises de variância para dados balanceados.** (SISVAR 4. 1. pacote computacional). UFLA. Lavras. 2000.

FERREIRA, E. et al. 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**, v.16, n.9, Art.66. 2004.

FIGUEIREDO, M.; MBHELE, A.; ZONDI, J. A. Modification of the Daisy II-220 technique for determining in vitro digestibility of animal feeds in comparison with the Minson & McLeod Technique. **South African Journal of Animal Science**, v.30, p.45-46, 2000.

FIRMINO DE SÁ, J. et al. Cinética da fermentação in vitro do capim-Marandu em diferentes idades de corte. **Acta scientiarum animal sciences**, v.33, n.3, p. 225-231, 2011.

FISCHER, S.F.; POSCHOLD, P.; BEINLICH, B. Experimental studies on the dispersal of plants and animals on sheep in calcareous grasslands. **Journal of applied ecology**, vol. 33, n. 5, 1996.

GARDENER, C.J.; MCLVOR, J.G.; JANSEN, A. Passage of legume and grass seeds through the digestive tract of cattle and their survival in faeces. **Journal of applied ecology**, p. 63-74. 1993.

GIMENES, F. M. A. al. Ganho de Peso e Produtividade Animal em Capim-Marandu Sob Pastejo Rotativo e Adubação Nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.7, p.751-759, jul. 2011.

GÖKBULAK, F. & CALL, C. Grass seedling recruitment in cattle dungpats. **Journal Range Management**, V.57, N.6, P.649, 2004.

GOMIDE, J. A. A técnica de fermentação ruminal *in vitro* na avaliação de forragens. **Revista brasileira de zootecnia**, v.3, 1974.

GONZÁLEZ, D. et al. Recomendaciones sobre la utilización de los metodos in vitro, in situ y enzimatico en el estudio de la digestión de alimentos. In: RUIZ, M.E.; RUIZ, A. (Eds). **Nutrición de rumiantes: Guía metodológica de investigación**. Costa Rica: IICA-ALPA-RISPAL, 1990. p.127-146.

GORGEN, C.A. et al. **Controle de *Sclerotia sclerotiorum* com o manejo de *Brachiaria ruziziensis* e aplicação de *Trichoderma harzianum***. EMBRAPA, 2008.

GUZSMAN A.; STEVENSON P.R. A new hypothesis for the importance of seed dispersal in time. **Revista de Biologia Tropical**, vol. 59, n.4, p. 1795, dezembro. 2011.

HERRERA, C.M.; PELLMYR, O. Seed dispersal by vertebrates. In: \_\_\_\_\_. **Plant animal interactions: an evolutionary approach**, Blackwell Science. OXFORD, 2002.

HIRATA, M.; SUGIMOTO, Y.; UENO, M. Distribution of dung pats and ungrazed areas in bahiagrass (*Paspalum notatum* Flüggé). **Grassland Science**, v.33, p.128-139, 1997.

HITTORF, M. and CORTEZ, J.P. Seed Dispersal by Wild Herbivores: Sympatric Species Strategies. **Silva Lus**. [online], v.21, n. Especial, pp.201-216, 2013.

HOLDEN, L.A. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.1791-1794, 1999.

HUNGATE, R. E. Possible modifications in ruminant feeding practices. In: \_\_\_\_\_. **The rumen and its microbes**. New York: London, 1966. Cap. 11, p. 419-441.

JANZEN, D. H. Herbivores and the number of tree species in tropical forests. **American naturalist**, v. 104, n. 940, p. 504, 1970.

\_\_\_\_\_. Differential seed survival and passage rates in cows and horses, surrogate pleistocene dispersal agents. **Oikos** 38, 150-156, 1982.

JOLAOSHO, A.O. et al. Seed in the faeces of ruminant animals grazing native pastures under semi-intensive management in Nigeria. **Tropical Grasslands**. v. 40, p.79- 83, 2006.

KATOVICH, J.; BECKER, R.; DOLL, J. **Weed seed survival in livestock systems**. University of Minnesota, Extension service and University of Wisconsin, p. 1-4, 2005.

LACERDA, M.J.R. et al. Quebra da dormência de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. 'Marandu'. **Semina Ciências Agrárias**, vol.31, 4, p. 824. 2010.

LANDERS, J.N. **Tropical crop-livestock systems in agriculture: the Brazilian experience**. Integrated crop management, FAO, Rome, Italy. 2007.

ABRASEM (Associação brasileira de sementes). **Sementes é tecnologia**. Revista Agroanalysis, v.4, n.2, 2014.

LASCANO, C.; PÉREZ, R.; PLAZAS, C.; MEDRANO, J.; e ARGEL, P. **Cultivar Toledo - Brachiaria brizantha (Accesión CIAT 2610)**: gramínea de crescimento vigoroso para intensificar la ganadería colombiana. Villavicencio: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 2002.

LIMA, R.V.; VIEIRA, H.D.; GUIMARÃES, F.S. Germination, vigor of seeds and emergence of fabaceae seedling in bovine faeces. **American Journal of Plant Sciences**, p. 2170-2177, 2014.

LEVIN, S. A. et al. The ecology and evolution of seed dispersal: A theoretical perspective. **Annual review of ecology, evolution and systematics**, vol.34, 2003.

LÓPEZ, S. In vitro and in situ techniques for estimating digestibility. In: DIJKSTRA, J.; FORBES, J. M.; FRANCE, J. (Ed.). **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. 2 ed. Cambridge: CABI Publishing, 2005. p. 87-121.

MABJEESH, S.J.; COHEN, M.; ARIELI, A. In vitro methods for measuring the dry matter digestibility of ruminant feedstuffs: comparison of methods and inoculum sources **Journal of Dairy Science**, v.83, p.2289-2294, 2000.

MACEDO, M.C.M. Integração lavoura pecuária: o estado da arte e inovações tecnológicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p.137-143. 2009.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, v. 12, 2005. 495 p.

MARTINS, L.; SILVA, W. R. Comportamento da dormência em sementes de braquiária submetidas a tratamentos térmicos e químicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n. 7, p. 997-1003, 2001.

MCDUGALL, E.I. Studies on ruminant saliva. 1. **The biochemical journal**, Nashville, v. 43, n.1, 1948.

MACHADO, L. A. Z.; DENARDIN, R.N.; JACQUES, A.V.A. Porcentagem de germinação e dureza do tegumento de sementes de três espécies forrageiras recuperadas em fezes ovina. **Revista da Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.1, p.42-45, 1997.

MELADO, J. Pastagem Ecológica e serviços ambientais da pecuária sustentável. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.2, n.2. 2007.

MELADO, J. Pastagens ecológicas: O habitat natural do bovino orgânico. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n.2, 2002.

MORAIS, L.F. et al. Efeito da mastigação sobre a sobrevivência de sementes de leguminosas forrageiras tropicais e germinação. **Archivos de Zootecnia**, vol.66, n.253. p.131-135, 2017.

NAKAO, E.A. and CARDOSO, V.J.M. Recovery and Germination of Legume Seeds Passed through the Digestive Tract of Bovine Cattle. **Biota Neotropica**, 10, 189-195, 2010.

NATHAN, R et al. Mechanisms of long distance seed dispersal. **Trends in ecology and evolution**, v.23, n.11, nov, 2008.

NUNES, S.G.; BOOK, A.; PENTEADO, M.I.O.; GOMES, D.T. **Brachiaria brizantha cv. Marandu**. Embrapa, Campo Grande. 2 ed, p.2. 1985.

OLIVEIRA, Y.; MACHADO, R.; POZO, P.P. **Características botânicas y agronómicas de espécies forrageiras importantes del género Brachiaria**. Pastos y forrajes perico.v.29, n.1, 2006.

PAKEMAN, R.J.; DIGNEFFE, G.; SMALL, JL. Ecological correlates of endozoochory by herbivores. **Functional Ecology**, vol. 16, no. 3, p. 296-304, 2002.

PAULINO, V.T.; ALCÂNTARA, P.B.; ALCÂNTARA, V.B.G. **A Brachiaria no novo século**. 2 ed, Nova Odessa, instituto de zootecnia, p.3-5. 2002.

PECO, B.; LOPEZ-MERINO, M.; ALVIR, M. Survival and germination of mediterranean grassland species after simulated sheep ingestion: ecological correlates with seed traits. **Acta oecologica**, v. 30, set/out, 2006.

PEREZ, J.R.O. Sistemas para a estimativa de digestibilidade in vitro. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE DIGESTIBILIDADE EM RUMINANTES, 1997, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA-FAEPE, 1997. p.55-68.

PEREIRA, L. C. et al. Pastagens consorciadas de braquiárias com estilosantes, no cerrado 1. Disponibilidade de forragem, composição botânica e valor nutritivo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, 1995, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba: SBZ, 1995. p. 62- 63.

PIZARRO, E. A. et al. Arachis spp: evaluacion agronômica em áreas bajas del Cerrado. In: Red Internacional de evaluacion de pastos tropicales,1, 1992, Brasília. Reunión Sabanas... Cali: Embrapa-CPAC/CIAT, 1992, P.353-356. (Documento de trabajo, 117)

REZENDE, A. V. et al. **Germinação de sementes de *Stylosanthes* misturadas ao sal para bovinos.** IN: Congresso de forragicultura e pastagens, II, Minas Gerais, 2007. Disponível em: <[http://unifenas.br/nepar/pesquisas/Resumo\\_pdf](http://unifenas.br/nepar/pesquisas/Resumo_pdf) >. Acesso 14 dez. 2016.

ROBLES, A. B.; CASTRO, J. Effect of thermal shock and ruminal incubation on seed germination in *Helianthemum apenninum* (L.) mil. (Cistaceae). **Acta Botanica Malacitana**, Málaga, p.44-47, 2002.

ROBLES, A.B.; CASTRO, J., GONZÁLEZ-MIRAS, E. Effects of ruminal incubation and goats' ingestion on seed germination of two legume shrubs: *Adenocarpus decorticans* Boiss. and *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss. **Options Méditerranéennes**, Series A, n.67, p. 111-115, 2005.

ROZALINO SANTOS, M.E. et al. Características estruturais e índice de tombamento de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk em pastagens diferidas. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.38, n.4, p.626-634, 2009.

SANTOS FILHO, L. F. **Producción de semillas: el punto de vista del sector privado brasileño.** In: MILES, J. W., MAASS, B. L., VALLE, C. B. (Ed.) *Brachiaria: biología, agronomía y mejoramiento*. Cali: CIAT, 1998.

SANTOS, G.T. et al. Determinação da digestibilidade in vitro de gramíneas do gênero *Cynodon* com uso de diferentes metodologias. **Acta Scientiarum**, v.22, p.761-764, 2000.

SANTOS, M.E.R. *et al.* Cattle production supplemented on signal grass pastures during the rainy season. **Acta Scientiarum**. Animal Sciences. Maringá, v.38, n.1, p.53, 2016.

SILVA, K.T. et al. Utilização de fezes (equina e bovina) em substituição ao líquido ruminal como fonte de inóculo para determinação da digestibilidade "in vitro" de alimentos para ruminantes. **Acta Scientiarum**, v.25, n.2, p.355-361, 2003.

SILVEIRA, P.M. et al. Atributos do solo e produtividade do milho e do feijoeiro irrigado sob sistema integração lavoura-pecuária. **Pesquisa agropecuária brasileira**, vol.46, n.10, 2011.

- SIMÃO NETO, M.; JONES, R.M.; RATCLIFF, D. Recovery of pasture seed ingested by ruminants. 1. Seed of six tropical pasture species fed to cattle, sheep and goats. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.27, n.2, p.239-246, 1987.
- SKERMAN, P. J.; RIVEROS, F. **Tropical grasses**. FAO Plant Production and Protection Series, Rome, n. 23, 1990.
- STANIFORTH, R.J.; CAVERS, P.B. The importance of cottontail rabbits in the dispersal of *Polygonum* spp. **Journal of Applied Ecology**, v.14, p. 261-268. 1977.
- TEIXEIRA, J.C. **Nutrição de ruminantes**. Lavras: Edições FAEPE, 239 p, 1997.
- TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**, v.18, p.104-111, 1963.
- TOLEDO, F.F.; CHAMMA, H.M.C.P.; NOVENBRE, A.D.LC. Germinação de sementes *Panicum maximum jacq.* Pré tratadas com ácido sulfúrico. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, jan./abr, 1995.
- TRAVESET, A.; VERDÚ, M. A meta-analysis of the effect of gut treatment on seed germination. In: LEVELY, D.J.; GALETTI, M. **Seed dispersal and frugivory: ecology, evolution and conservation**. Gainesville, 2002.
- TRAXLER, M.J.; ROBERTSON, J.B.; VAN SOEST, P.J. e al. A comparison of methods for determining IVDMD a three periods using the filter bag technique versus conventional methods. **Journal of Dairy Science**, v.78, suppl. 1, p.274, 1995.
- VALCARCEL, R.; SILVA, Z.S. A eficiência conservacionista de medidas de recuperação de áreas degradadas: proposta metodológica. **Revista Floresta**, v.21, n.1-2, 101-114. 2000.
- VALENTIM, J.F.; CARNEIRO, J.C. **Quebra de dormência e plantio de puerária em sistemas de produção agropecuário e agroflorestais**. Embrapa-CPAF- Acre. Rio Branco: Embrapa Acre/ASB, 1998.
- VALLE, C. B. *et al.* O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. **Revista Ceres. Viçosa**, v. 56, n. 4. P.461, 2009.
- VALLE, C.B. *et al.* **O capim xaraés (*Brachiaria brizantha* cv. Xaraés) na Diversificação das Pastagens de Braquiária**. EMBRAPA, Campo Grande, documentos 149, p. 12. 2004.
- VALÉRIO, J.R. **Cigarrinha das pastagens**. Campo Grande, MS. Embrapa gado de corte, 2009. Disponível em: <http://old.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/doc/DOC179.pdf>. Acesso em: jan. 2017.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Cornell University, Ithaca, NY: Press. 2 ed, 1994.
- VECHIATO, M. H.; APARECIDO, C. C.; FERNANDES, C. D. Frequência de fungos em lotes de sementes comercializadas de *Brachiaria* e *Panicum*. São Paulo: Instituto

Biológico - APTA, 2010. n. 7, 11 p. (Instituto Biológico - APTA. Documento Técnico, 004).

VELÁSQUEZ, P.A.T. **Composição química, digestibilidade e produção de gases *in vitro* de três espécies forrageiras tropicais.** Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal. 66 pp. 2006.

VERZIGNASSI, J. R. et al. *Pyricularia grisea*: novo patógeno em *Brachiaria brizantha* cv. marandu no Pará. **Summa phytopathologica**, v. 38, n. 3, 2012.

VOGEL, K.P.; PEDERSEN, J.F.; MASTERSON, S.D. et al. Evaluation of a filter bag system for NDF, ADF, and IVDMD forage analysis. **Crop Science**, v.39, p.276-279, 1999.

WEEDA, W.C. The effect of cattle dung patches on pasture growth, botanical composition and pasture utilization. **New Zealand Journal of Agriculture Research**, vol.10: 150-159, 1969.

WILMAN, D.; ADESOGAN, A. A comparison of filter bag methods with conventional tube methods of determining the *in vitro* digestibility of forages. **Animal Feed Science and Technology**, Ireland, v.84, p.33-47, 2000.