

MASTIGAÇÃO SIMULADA E DIGESTÃO ÁCIDO-ENZIMÁTICA DE SEMENTES DE LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS[#]

SIMULATED MASTICATION AND ACID-ENZYMATIC DIGESTION OF SEEDS OF TROPICAL FORAGES LEGUMES

Deminicis, B.B.^{1*}, Vieira, H.D.², Almeida, J.C.C.³, Vásquez, H.M.², Araújo, S.A.C.⁴, Jardim, J.G.⁵, Castagnara, D.D.⁶, Pádua, F.T.⁷, Chambela Neto, A.⁸ e Lima, E.S.⁹

¹DZOO/CCA. Universidade Federal do Espírito Santo. UFES. Alegre-ES. Brasil. *brunodeminicis@hotmail.com

²CCTA. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. UENF. Campos dos Goytacazes-RJ. Brasil. henrique@uenf.br; maldonado@uenf.br

³DNAP/IZ. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Seropédica-RJ. Brasil. jcarvalho@ufrj.br

⁴DZOO/FCA. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM). Diamantina-MG. Brasil. araujosac@yahoo.com.br

⁵Mestranda em Ciência Animal da UENF. Campos dos Goytacazes, RJ. Brasil.

⁶Universidade Estadual do Oeste do Paraná-Unioeste. Marechal Cândido Rondon-PR. Brasil. deiseecastagnara@yahoo.com.br

⁷Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ). Campus Nilo Peçanha. Pinheiral-RJ. Brasil. forrorural@hotmail.com

⁸Instituto Federal do Espírito Santo (IFES). Campus Santa Teresa. Santa Teresa-ES. Brasil. chambela@gmail.com

⁹FMVZ. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Botucatu-SP. Brasil. ericozoo1@yahoo.com.br

PALAVRAS CHAVE ADICIONAIS

Endozoochoria. Escarificação. Dormência. Germinação.

ADDITIONAL KEYWORDS

Endozoochory. Scarification. Dormancy. Germination.

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo verificar o efeito da mastigação simulada em laboratório sobre a sobrevivência de sementes de quatro leguminosas forrageiras tropicais submetidas a diferentes períodos de digestão ácido-enzimática *in vitro* (cunha, *Clitorea ternatea*; estilosantes, *Stylosanthes capitata*/S. *macrocephala* 'Campo Grande'; macrotiloma, *Macrotyloma axillare* e soja perene, *Neonotonia wightii*). Foram conduzidos três ensaios: o primeiro, para observar o percentual de sementes destruídas pela *mastigação*; o segundo, para comparar o comportamento germinativo das sementes após *mastigação*,

escarificação com lixa, *mastigação* com posterior escarificação com lixa e sementes integras (controle). No terceiro ensaio as sementes foram incubadas a 39°C com ácido clorídrico mais pepsina por: 0, 2, 4, 8, 12 e 24 horas. As percentagens de sementes não destruídas na *mastigação* (91,5 de macrotiloma; 88,0 de soja perene; 82,1 de cunha e 81,1 de estilosantes), associadas aos efeitos benéficos da escarificação (verificados pela porcentagem de germinação, 64,7; 60,0; 92,0 e 87,3%), e aos efeitos do tempo de digestão ácido-enzimática (75% maior quando permanecem 24 horas em HCl + pepsina) permitem observar que as sementes de leguminosas, por possuírem tegumentos duros e impermeáveis, quando submetidas à *mastigação* e à digestão ácido-enzimática, ainda tem um elevado potencial de resistência e, portanto, susceptível de passar intacta pelo aparelho digestivo dos bovinos, sendo capazes de germinar quando defecadas nas

[#]Projeto financiado pela Fundação Carlos Chagas Filho de Apoio a Pesquisa no Estado do Rio de Janeiro-FAPERJ, pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq.

pastagens. Contudo, o estilosantes não deve ser inserido na alimentação de bovinos com este fim, pois não resiste à digestão ácido-enzimática.

SUMMARY

This study aimed to evaluate the effect of simulated chewing in the laboratory on the survival of seeds of four tropical forage legumes (butterfly pea, *Clitoria ternatea*; estilosantes, *Stylosanthes capitata*/S. *macrocephala* 'Campo Grande; archer, *Macrotyloma axillare* and perennial soybean, *Neonotonia wightii*) submitted to different periods of acid enzymatic digestion *in vitro*. Three trials were conducted to observe the percentage of destroyed seeds by the *mastication*; to compare the germination of the seeds (intact seeds, simulated mastication, scarification with sandpaper, mastication and scarification with sandpaper). And, finally the seeds were incubated at 39°C with hydrochloric acid and pepsin for: 0, 2, 4, 8, 12 and 24 hours. The percentages of not destroyed seeds in mastication (archer, 91,5; perennial soybean, 88,0; butterfly pea, 82,1, and estilo, 81,1), associated with the beneficial effects of scarification on germination (64,7, 60,0, 92,0 e 87,3%, respectively) and the effects of time of acid-enzymatic digestion (75% higher if they stay 24 hours in HCl + pepsin) associated to the hard and not permeable coats of legume seeds, allow a high potential for resistance, and to pass intact through the digestive tract of cattle, being able to germinate when defecated in the pastures. However, estilo should not be included in the feeding of cattle for this purpose, because it do not resists the acid-enzyme digestion.

INTRODUÇÃO

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. 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 ou equinos (Deminicis *et al.*, 2007; Rezende *et al.*, 2007; 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, porque depende de indivíduo, de parâmetros nutricionais dos alimentos, da estrutura do alimento ou semente, além disso existe grande dificuldade em se obter o material para análise logo após mastigação, sem considerar a ruminação. No trato digestório ocorre o processo anaeróbico por bactérias proteolíticas e celulolíticas e o

SEMENTES SUBMETIDAS À MASTIGAÇÃO E DIGESTÃO

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. Apesar dessas informações certamente serem úteis, elas não são conclusivas, pois a sobrevivência de sementes de várias espécies, após passagem pelo trato digestório dos ruminantes, é pouco conhecida.

Desta forma, este trabalho pretendeu analisar a mastigação simulada, a digestão ácido-enzimática, os efeitos da escarificação e os efeitos dinâmicos destes, sobre a sobrevivência e taxa de germinação das sementes de sementes de quatro leguminosas tropicais.

MATERIAL E MÉTODOS

MASTIGAÇÃO SIMULADA

Este trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitotecnia da UENF, em Campos dos Goytacazes-RJ, entre os meses de outubro e novembro de 2007. As espécies utilizadas foram: *Clitoria ternatea*, *Stylosanthes capitata/S. macrocephala* 'Campo Grande', *Neonotonia wightii* e *Macrotyloma axillare*. Primeiramente foi conduzido um ensaio para observar o percentual de sementes destruídas pela mastigação por bovinos, com delineamento experimental inteiramente casualizado, 4 leguminosas com 6 repetições. Para simular a mastigação foi escolhido o método descrito por Bonn (2004), onde é possível avaliar a sensibilidade das sementes à tensão mecânica. Para isso foi utilizada uma barra de ferro com uma área de contato de 2 cm² e comprimento de 1,3 m, uma pessoa com peso de aproximadamente 70 kg manteve a barra a 90° com o solo, girando à 90° 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 (2 cm²), para simular o contato das sementes com a

gingiva e os dentes. Para simular algum tipo de alimento, foram adicionados, ao recipiente plástico, aproximadamente 3 gramas de *Paspalum notatum* picado à 2,5 cm, as medidas do recipiente plástico se encontram dispostas na **figura 1**.

A área de mastigação foi ajustada exatamente dentro do recipiente plástico que foi anexado ao pedaço de madeira representando a mandíbula, sendo que todas as medidas se encontram dispostas na **figura 1**. As sementes foram colocadas (10 g) no recipiente em uma única camada cobrindo a área de contato com as borrachas e a cabeça do prego e sobre elas, as 3 g de *Paspalum notatum*, sendo então as sementes *mastigadas* três vezes (3 rotações a 90° e pressão para baixo). Todas as sementes contidas nos 10 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*.

Outro ensaio foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 4 (4 leguminosas, 4 tratamentos), com seis repetições. Os tratamentos foram: A) sementes intactas; B) escarificadas com lixa d'água nº100; C) *mastigadas* e D) *mastigadas* e escarificadas com lixa d'água nº100.

A justificativa deste ensaio foi observar e comparar o comportamento germinativo das espécies utilizadas após *mastigação*, escarificação com lixa para quebra de dormência do tegumento, *mastigação* com posterior escarificação com lixa e sem nenhum tratamento (controle, ou seja, intactas). Para a confecção do tratamento controle, foram escolhidas 50 sementes intactas, ou seja, sementes que não passaram por nenhum tratamento experimental. Para o tratamento sementes escarificadas foram selecionadas 60 sementes intactas, sendo que, após escarificação com a lixa, foram escolhidas 50 sementes por repetição para realização do teste de germinação. Para o tratamento *mastigação*,



Figura 1. Metodologia de mastigação simulada. A: barra de ferro; B: recipiente de plástico. (Methodology of simulate mastication).

foi realizada a simulação da mastigação com posterior seleção de 50 sementes não destruídas, por repetição, para o teste de germinação. Para o tratamento mastigação com posterior escarificação, foi realizada a simulação da mastigação e seleção de 60 sementes não destruídas, sendo que estas foram escarificadas e selecionadas 50 sementes por repetição para realização do teste de germinação.

O teste de germinação foi realizado, de acordo com Ministério da Agricultura e Reforma Agrária do Brasil (1992), em câmara de germinação do tipo BOD a 25°C, com 12 horas de luz, onde as sementes foram colocadas para germinar em rolo de papel germiteste autoclavado (120°C/20 minutos) e 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 10º dia após a

montagem do teste. A classificação das plântulas como normais ou anormais foi realizada de acordo com Ministério da Agricultura e Reforma Agrária do Brasil (1992), considerando normais as plântulas com todas as estruturas essenciais em perfeito desenvolvimento. Ao final dos dois ensaios, pode-se chegar à porcentagem de sobrevivência das sementes pela fórmula:

Porcentagem de sementes que não foram destruídas pela *mastigação* x Porcentagem de germinação das sementes *mastigadas* e escarificadas x 10⁻¹

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, contudo não há o interesse de verificar a interação dos

SEMENTES SUBMETIDAS À MASTIGAÇÃO E DIGESTÃO

tratamentos x espécies estudadas. Todos os valores foram transformados, para fins de análise de variância, em $\arcsen\sqrt{(x/100)}$, utilizando-se o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000).

DIGESTÃO ÁCIDO-ENZIMÁTICA *IN VITRO*

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

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 6 (4 leguminosas, 6 tratamentos), com quatro repetições. Foi realizado a adição de cerca de 40 mL de HCl a 6 N e 8 g de pepsina (Sigma EC 3.4.23.1) em cada erlenmeyer de 250 mL, mantendo-se a 39°C. A pepsina foi previamente dissolvida em 34 mL de H₂O, destilada a 35°C durante cinco minutos em agitador, mantendo-se o pH da solução entre 2,0 a 3,5 (Holden, 1999). Em cada erlenmeyer, foram acondicionadas 50 sementes de somente uma espécie, totalizando o uso de 96 erlenmeyer, nas quais as sementes permaneceram por: A) 0; B) 2; C) 4; D) 8; E) 12 e F) 24 horas. O CO₂ foi inoculado por cerca de 30 segundos, antes e após a adição das sementes. Ao término dos períodos de incubação, 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, sendo considerado que as sementes que não geminaram e também não absorveram água. O teste de germinação foi realizado em câmara de germinação do tipo BOD a 25°C, sob luz branca por 12 horas, 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. A avaliação do teste de germinação (plântulas normais) foi realizada no 10º dia após a montagem do teste. Os resultados obtidos no teste de germinação foram transformados em $\arcsen\sqrt{(x/100)}$ e submetidos à análise de variância e regressão utilizando o programa Sisvar (Ferreira, 2000). O efeito dos tempos de digestão ácido-enzimática foi determinado por meio da análise de regressão simples.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

MASTIGAÇÃO SIMULADA

Os resultados obtidos neste trabalho encontram-se na **tabela I**. No primeiro ensaio, a análise da variância mostrou efeito significativo ($p < 0,05$) para espécies quanto à porcentagem de sementes não destruídas (**tabela II**). O percentual de sementes destruídas foi maior nas espécies cunhã e estilosantes 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. 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 estilo-

Tabela I. Sementes não destruídas pela mastigação simulada, germinação (G) e sobrevivência de sementes de leguminosas forrageiras tropicais. (Seeds not destroyed with simulated mastication, germination (G) and survival of seeds of tropical forage legumes).

	macrotiloma	soja perene	cunhã	estilosantes	CV%
Não destruídas %	91,50 ^a	87,97 ^a	82,09 ^b	81,07 ^b	2,80
G intactas %	6,33 ^{Cd}	32,00 ^{Cb}	22,00 ^{Cc}	85,33^{Aa}	10,72
G escarificadas %	64,67^{Ab}	60,00^{Ab}	92,00^{Aa}	87,33^{Aa}	4,35
G mastigadas %	19,00 ^{Bc}	37,67 ^{Bcb}	39,67 ^{Bab}	45,00 ^{Ba}	12,18
G mastigadas e escarificadas %	58,00^{Ab}	42,33 ^{Bc}	86,00^{Aa}	39,33 ^{Bc}	10,87
sobrevivência %	47,02 ^b	37,21 ^c	70,62 ^a	35,96 ^c	11,53

^{abcABC}Medias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

santes (*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 resistência (70%). Bonn (2004) observou que a tensão mecânica proporcionada pela *mastigação simulada* apresenta resultados

Tabela II. Análise de variância para sementes não destruídas pela mastigação simulada, germinação (G) e sobrevivência de sementes de leguminosas forrageiras tropicais. (Analyses of variance for the seeds not destroyed for the simulated mastication, germination (G) and survival of seeds of tropical forage legumes).

Fonte de variação	GL	QM	p>F
Não destruídas %	23	146 235,12	< 0,0001
G intactas %	23	705 038,89	< 0,0001
G escarificadas %	23	153 777,78	< 0,0001
G mastigadas %	23	768 888,89	< 0,0001
G mastigadas e escarificadas %	23	273 572,22	< 0,0001
sobrevivência %	23	154 768,93	< 0,0001

GL= grau de liberdade; QM= quadrado médio; p>F= nível e significância.

SEMENTES SUBMETIDAS À MASTIGAÇÃO E DIGESTÃO

variáveis entre as 14 espécies, excluindo *Lotus corniculatus* e *Poa angustifolia*, todas as outras espécies estudadas por ela apresentaram redução na viabilidade de suas sementes após *mastigação simulada*, entretanto não muito elevada.

DIGESTÃO ÁCIDO-ENZIMÁTICA *IN VITRO*

Foram obtidas, por meio de análise de regressão, as equações que descrevem o comportamento da porcentagem de germinação e porcentagem de dureza (D%) das sementes submetidas a diferentes períodos de permanência em ácido clorídrico mais pepsina, **figura 2 e 3**, sendo verificada significância ($p < 0,05$) **tabela III**.

Desta forma, podemos verificar os principais efeitos do tratamento (tempo de permanência em HCl + pepsina) sobre as espécies estudadas. Quanto à porcentagem de germinação, as sementes apresentaram pequeno acréscimo à medida que se aumentou o período de permanência no ácido clorídrico mais pepsina. No entanto, o estilosantes apresentou comportamento contrário às demais, reduzindo o número de sementes germinadas (**figura 2**), justamente por conta do número de sementes mortas observadas no teste de germinação. Este

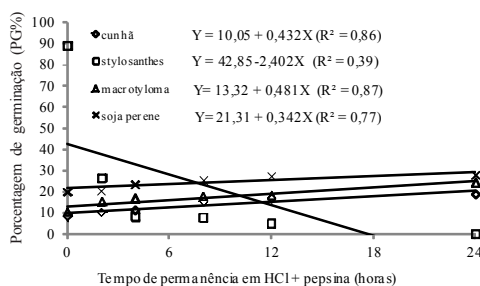


Figura 2. Germinação de cunhã, macrotyloma, estilosantes 'Campo Grande' e soja perene em função dos períodos de digestão ácido-enzimática (regressões $p < 0,05$). (Germination of seeds of butterfly pea, stylosanthes 'Campo Grande', archer and perennial soybean in function of the periods of acid-enzymatic digestion (regressions $p < 0.05$)).

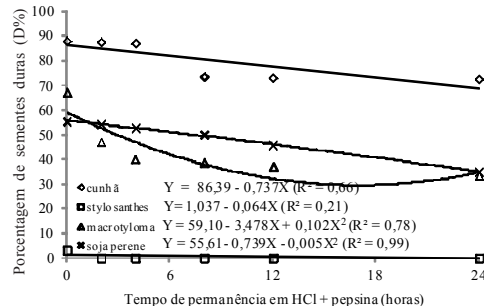


Figura 3. Sementes duras de cunhã, macrotyloma, estilosantes 'Campo Grande' e soja perene em função dos períodos de digestão ácido-enzimática (regressões $p < 0,05$). (Hard seeds of butterfly pea, stylosanthes 'Campo Grande', archer and perennial soybean in function of the periods of acid-enzymatic digestion (regressions $p < 0.05$)).

comportamento pode ser justificado pelo fato de que o estilosantes possui tegumento pouco resistente, haja visto que a recomendação para superação de sua dormência requer imersão em ácido sulfúrico concentrado durante, no máximo, 10 minutos (Seiffert, 1982). O comportamento da porcentagem de sementes duras em todas as espécies foi semelhante (**figura 3**), ou seja, houve redução do número de sementes duras a medida que aumentou o tempo de permanência no ácido mais pepsina, embora o estilosantes tenha apresentado acentuada redução logo nas primeiras horas. Contudo, as espécies macrotyloma, cunhã e soja perene apresentaram alta resistência e sobrevivência de suas sementes, justamente pela dureza do tegumento das mesmas. Este comportamento sugere que a escarificação ácido-enzimática das sementes tenha provocado pequeno efeito sobre a permeabilidade do tegumento das sementes, pelo menos em três das espécies estudadas. E que as sementes de estilosantes sofrem danos letais quando submetidas à digestão ácido-enzimática, independente do período de permanência.

A literatura relaciona diversas técnicas

Tabela III. Análise de variância para germinação e sementes duras de cunhã, macrotiloma, estilosantes 'Campo Grande' e soja perene em função dos períodos de digestão ácido-enzimática. (Analyses of variance for germination and hard seeds of seeds of butterfly pea, stylosanthes 'Campo Grande', archer and perennial soybean in function of the periods of acid-enzymatic digestion).

Fonte de variação	Germinação (%)			Sementes duras (%)		
	GL	QM	p>F	GL	QM	p>F
Cunhã						
Linear	5	67 466,67	< 0,0005	5	253 100,00	< 0,0005
Quadrática	5	88 426,67	0,0018	5		
Macrotiloma						
Linear	5	43 026,67	< 0,0005	5	594 666,67	< 0,0005
Quadrática	5	82 666,67	0,0021	5	24 942,03	< 0,0005
Estilosantes 'Campo Grande'						
Linear	5	2 573 550,88	< 0,0005	5	3221,05	< 0,0005
Quadrática	5	535 520,88	0,0458	5	9185,05	0,0168
Soja perene						
Linear	5	47 066,67	< 0,0005	5	411 866,67	< 0,0005
Quadrática	5	15 719,81	0,0166	5	5215,21	0,03514

GL= graus de liberdade; QM= quadrado médio; p>F= nível e significância.

para superar a impermeabilidade do tegumento, entre as quais se destacam a escarificação ácida, que ocasiona o desgaste do tegumento, promovendo a permeabilidade da semente. Apesar disto, Alves *et al.* (2007) observaram que a escarificação ácida interfere drasticamente na germinação de sementes de *Schinopsis brasiliense*, porque além de superar a dormência de seu tegumento, causa a morte de quase todas as sementes submetidas à este tratamento.

Com base nestes resultados, poderiam ser avaliados tempos de imersão mais prolongados na solução ácida, para verificar se há aumento significativo da germinação das sementes. Contudo, fica claro que se as sementes sobreviverem à degradação ruminal e à digestão ácido-enzimática, permanecendo dormentes, poderão germinar nas fezes de bovinos, quando as mesmas forem introduzidas na dieta destes animais. Para Peco *et al.* (2006) espécies com tegumentos impermeáveis apresentam maiores porcentagens de germinação após

passagem pelo trato digestivo de bovinos, embora nenhuma diferença significativa possa ser notada na sobrevivência ou a velocidade de germinação. A idéia de que a latência se rompe quando as sementes passam as pelo trato digestivo de animais, é amplamente aceita (Pakeman e Small, 2009; Baraza e Valiente-Banuet, 2008; Vega e Godínez-Alvarez, 2010; Razanamandranto, *et al.* 2004), embora existam resultados contraditórios (Janzen, 1981; Peinetti *et al.*, 1993; Izhaki e Ne'eman, 1997; Campos e Ojeda, 1997; Ortega *et al.*, 2001; Manhães *et al.*, 2003; Chang *et al.*, 2005).

CONCLUSÃO

A mastigação simulada de sementes em laboratório, com uma barra metálica, permite observar que as sementes das leguminosas testadas, por possuírem tegumentos duros e impermeáveis, quando submetidas à mastigação por bovinos, possuem maior potencial de resistência e, desta forma,

SEMENTES SUBMETIDAS À MASTIGAÇÃO E DIGESTÃO

maiores são suas chances de passar pelo trato digestório dos bovinos, sendo capazes de germinar quando defecadas nas pastagens.

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

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

Novos estudos devem ser realizados

para permitir maior clareza dos resultados e para verificar a possibilidade do uso da introdução de leguminosas por bovinos em pastagens.

AGRADECIMENTOS

Sinceros agradecimentos às seguintes instituições e as pessoas que as compõem, sem as quais o presente trabalho teria sido impossível: À UENF, UFRRJ, FAPERJ, CNPq e CAPES pelo financiamento deste projeto de pesquisa.

BIBLIOGRAFIA

- Alves, A.F., Aves, A.F., Guerra, M.E.C. e Medeiros Filho, S. 2007. Superação de dormência de sementes de braúna (*Schinopsis brasiliense* Engl.). *Rev Ciênc Agron*, 38: 74-77.
- Baraza, E. and Valiente-Banuet, A. 2008. Seed dispersal by domestic goats in a semiarid thornscrub of Mexico. *J Arid Environ*, 72: 1973-1976.
- 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). Universität Regensburg. Stuttgart. Germany. 156 pp.
- Campos, M. and Ojeda, R. 1997. Dispersal and germination of *Prosopis flexuosa* (Fabaceae) seeds by desert mammals in Argentina. *J Arid Environ*, 35: 707-714.
- Carmona, R., Ferguson, J.E. e Maia, M.S. 1986. Germinação de sementes em *Stylosanthes macrocephala* M.B. Ferret Sousa Costa e S. capitata vog. in *linnaea*. *Rev Bras Sementes*, 8: 19-27.
- Chang, E.R., Zozaya, E.L., Kuijper, D.P.J. and Bakker, J.P. 2005. Seed dispersal by small herbivores and tidal water: are they important filters in the assembly of salt-marsh communities? *Funct Ecol*, 19: 665-673.
- Deminicis, B.B., Almeida, J.C.C., Blume, M.C., Araújo, S.A.C., Pádua, F.T., Zanine, A.M. e Jaccoud, C.F. 2006. Superação da dormência de sementes de oito leguminosas forrageiras tropicais. *Arch Zootec*, 55: 401-404.
- Deminicis, B.B., Almeida, J.C.C., Araújo, S.A.C., Blume, M.C., Vieira, H.D. e Dobbss, L.B. 2007. Sementes de leguminosas submetidas a diferentes períodos de estresse salino. *Arch Zootec*, 56: 347-350.
- Ferreira, D.F. 2000. Sistema de análises de variância para dados balanceados. (SISVAR 4. 1. pacote computacional). UFLA. Lavras.
- Holden, L.A. 1999. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for tem feeds. *J Dairy Sci*, 82: 171-794.
- Hungate, R.E. 1966. The rumen and its microbes. Academic Press. New York. 533 pp.
- Izhaki, I. and Ne'eman, 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. 1981. *Enterolobium cyclocarpum* seed passage rate and survival in horses, Costa Rican Pleistocene seed dispersal agents. *Ecology*, 62: 593-601.
- Manhães, M.A., Assis, L.C.S. e Castro, 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: 173-180.
- Ministério da Agricultura e Reforma Agrária do Brasil. 1992. Regras para análise de sementes. SNDA/DNDV/CLAV. Brasília. 365 pp.
- Ortega, B.P., Viana, M.L., Larenas, G. y Saravia, M. 2001. Germinación de semillas de *Caesalpinia paraguariensis* (Fabaceae): agentes escari-

DEMINICIS ET AL.

- ficadores y efecto del ganado. *Rev Biol Trop*, 49: 301-304.
- Pakeman, R.J. and Small, J.L. 2009. Potential and realised contribution of endozoochory to seedling establishments. *Basic Appl Ecol*, 10: 656-661.
- Peco, B., Lopez-Merino, L. and 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.M., Pereyra, M., Kin, A. and Sosa, A. 1993. Effect of cattle ingestion on viability and germination rate of caldén (*Prosopis caldenia*) seeds. *J Range Manage*, 46: 483-486.
- Pereira, A.V., Valle, C.B., Ferreira, R.P. e Miles, J.W. 2001. Melhoramento de forrageiras tropicais. In: Nass, L.L., A.C.C., Valois, I.S. Melo e M.C. Valadares-Inglis (Eds.). Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas. Rondonópolis. pp. 549-601.
- Razanamandranto, S., Tigabu, M., Neya, S. and Odén, P.C. 2004. Effects of gut treatment on recovery and germinability of bovine and ovine ingested seeds of four woody species from the Sudanian savanna in West Africa. *Flora: Morphol Distrib Funct Ecol Plants*, 199: 389-397.
- Rezende, A.V., Vilela, H.H., Pereira, R.S.A., Nogueira, D.A., Landgraf, P.R.C. e Vieira, P.F. 2007. Germinação de sementes de *Stylosanthes* misturadas ao sal para bovinos. Congresso de Forragicultura e Pastagens, 2. Anais... NEFOR. Lavras. CD-ROM.
- Ribeiro, R.C., Rossiello, R.P., Macedo, R.O. e Barbieri Jr., E.B. 2007. Introdução de desmódio em pastagem estabelecida de *Brachiaria humidicola*: densidade e frequência da leguminosa no consórcio. *Rev Univ Rural, Sér Ciên Vida*, 27: 41-49.
- Seiffert, N.F. 1982. Métodos de escarificação de sementes de leguminosas forrageiras tropicais. Embrapa Gado de Corte. Campo Grande, MS. (Comunicado Técnico, 13). 6 pp.
- Silva, T.O. 2008. Dispersão, germinação e persistência de leguminosas forrageiras tropicais através das fezes de bovinos. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica. 46 pp.
- Tonin, F. 2004. Fabácea, a "praga" que salvou rebanho leiteiro. DBO Mundo do Leite. *Rev Mercado Lácteo*. São Paulo, 11: 18-21.
- Valentim, J.F. e Carneiro, J.C. 1998. Quebra da dormência e plantio de puerária em sistemas de produção agropecuários e agroflorestais. Embrapa-CPAF-Acre. Rio Branco. (Instruções Técnicas Nº 17).
- Valetim, J.F., Andrade, C.M.S., Feitoza, J.E., Sales, M.G. e Vaz, F.A. 2002. Métodos de introdução do amendoim forrageiro em pastagens já estabelecidas no acre. Embrapa-CPAF-Acre. Rio Branco. (Boletim técnico nº 152).
- Vega, S. and Godínez-Alvarez, H. 2010. Effect of gut passage and dung on seed germination and seedling growth: donkeys and a multipurpose mesquite from a Mexican inter-tropical desert. *J Arid Environ*, 74: 521-524.
- Velásquez, P.A.T. 2006. 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.