

7.2261

UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA

FACULTAD DE AGRONOMIA

GERMINACION DE SEMILLAS DE **Coleostephus myconis**
SOMETIDAS A PASAJE POR TRACTO DIGESTIVO

por

Alvaro IGLESIAS RIAL

TESIS presentada como uno
de los requisitos para obtener
el título de Ingeniero Agrónomo.

MONTEVIDEO
URUGUAY
1998

Tesis aprobada por:

Director:

Ing. Agr. (M.Sc., Dr.) Amalia Ríos

Ing. Agr. (M.Sc., Dr.) Grisel Fernández

Ing. Agr. Daniel Bayce

Fecha: _____

Autor: _____

Alvaro Iglesias

AGRADECIMIENTOS

A Amalia Ríos por su dedicación, confianza y cariño que permitieron una formación no solo profesional sino también humana.

Al Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Estación Experimental La Estanzuela, por permitir la realización de este trabajo.

A Daniel Cozzolino, Georggete Banchemo y Caisiv Rostan por su invaluable aporte.

A Eduardo Calistro y Dinorah Rey por su colaboración y asesoramiento en la ejecución de las distintas tareas.

A todos los compañeros que compartieron este período tan importante.

A Graciela Vila y Alejandra Días y al personal del Laboratorio de Semillas por la ayuda prestada en la elaboración de esta tesis.

A mi familia por el cariño y apoyo de siempre.

TABLA DE CONTENIDO

Página

PAGINA DE APROBACION	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
TABLA DE CONTENIDO.....	IV
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	V
1. INTRODUCCION.....	6
2. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	8
2.1. CARACTERISTICAS RELEVANTES DE LA ESPECIE.....	8
2.2. REQUERIMIENTO DE FACTORES ABIOTICOS.....	9
2.2.1. Temperatura.....	9
2.2.2. Luz.....	9
2.2.3. Lluvia.....	10
2.2.4. Estratificación.....	10
2.3. DISEMINACION DE SEMILLAS.....	11
2.4. DISEMINACION DE SEMILLAS ATRAVES DE LOS ANIMALES.....	11
2.4.1. Diseminación Externa.....	12
2.4.2. Diseminación Interna.....	12
2.4.3. Efecto de órganos digestivos y tiempo de permanencia.....	15
2.4.3.1. Boca.....	15
2.4.3.2. Rumen.....	16
2.4.3.3. Omaso.....	17
2.4.3.4. Abomaso.....	17
2.4.3.5. Duodeno.....	18
2.4.3.6. Tiempo de permanencia.....	18
3. MATERIALES Y METODOS.....	21
4. RESULTADOS Y DISCUSION.....	25
5. CONCLUSIONES.....	32
6. RESUMEN.....	33
7. SUMMARY.....	35
8. BIBLIOGRAFIA.....	37

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

	Página
Cuadro N°1: Reducción en el porcentaje de germinación de <i>C. myconis</i>	25
Figura N°1: Porcentaje y velocidad de germinación de <i>C. myconis</i> expuestas al tracto digestivo durante diferentes períodos de tiempo.....	26
Figura N°2: Flujo de germinación de semillas de <i>C. myconis</i> expuestas al tracto digestivo por diferentes períodos de tiempo.....	28
Figura N°3: Germinación de semillas sometidas a ambiente ruminal y a la totalidad de tracto	29
Figura N°4: Flujo de germinación durante los 44 días del experimento.....	30

INTRODUCCIÓN

Coleostephus myconis (Margarita de Piria) es una especie cuyas características reproductivas determinaron una muy rápida diseminación y colonización en muchas y extensas áreas del territorio nacional, produciendo importantes perjuicios en lo referente a la persistencia de pasturas perennes y disminuciones en la productividad de cultivos anuales debido a su alta capacidad de competencia.

Su gran capacidad de colonización y su prolongada persistencia a través de la creación de un importante banco de semillas en el suelo determinaron la investigación y generación de tecnología específica para esta maleza en forma muy rápida.

Una vez que la maleza ingresó al establecimiento y colonizó una pastura, se cuenta con alternativas químicas, mecánicas y medidas de manejo para su control y sin embargo ninguna de estas medidas adoptada en forma aislada mostró una eficiencia satisfactoria. En consecuencia es necesario un control integrado, que combine todas las alternativas posibles para asegurar el mayor grado de control, así como el máximo de producción de la pastura. Distintas combinaciones de estas alternativas se determinaron, y durante la elaboración de este paquete se ha visto que el punto donde se debe poner especial énfasis es en evitar la dispersión de la maleza.

Las semillas son la principal forma de propagación y diseminación de esta especie presentando caracteres morfológicos y fisiológicos, que le permiten una rápida dispersión tanto dentro de la chacra como hacia nuevas zonas de colonización. Cualidades como la producción de un mucilago pegajoso que le permite su adhesión a substratos como: otras semillas, maquinaria o animales (Del Campo & Irazábal 1994), así como el tamaño y forma de los aquenios determinan formas de dispersión muy variables. En nuestro país la siembra de semilla de especies forrajeras con bajos porcentajes de pureza que contienen esta maleza es uno, sino él, más importante de los medios de diseminación de esta especie (Ríos y Giménez, 1993). Otras formas de diseminación son el traslado a través de corrientes de agua o escurrimiento de áreas infestadas y a través de maquinaria tanto agrícola como vial. Una de las particularidades de esta especie es su establecimiento en bordes de rutas y caminos, ingresando posteriormente a los establecimientos rurales. La utilización de alimento para el ganado

como fardos o granos que estén contaminados con esta especie es otra de las vías de ingreso de la maleza a los establecimientos.

En muchos casos las chacras infestadas con Margarita de Piria son pastoreadas por bovinos u ovinos, y debido a que los animales pueden actuar como agentes de diseminación o de control alternativamente, dependiendo de muchos factores inherentes tanto al animal como a la planta, sería imprescindible estudiar la viabilidad de las semillas de *C. myconis* después del pasaje por el tracto digestivo para determinar claramente cual sería su rol en el caso de esta maleza. Esto además posibilitará agregar medidas de manejo al control integrado, aportando a una mayor eficiencia.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. CARACTERÍSTICAS RELEVANTES

C. myconis es una especie perenne rizomatosa. En general florece a partir de la segunda quincena de octubre y se prolonga la floración hasta fines de diciembre; ocurriendo otras floraciones a lo largo del año dependiendo de las condiciones ambientales (Ríos & Giménez, 1993).

Las inflorescencias son capítulos a partir de los cuales se forman aquenios cilíndricos alargados con poco más de un milímetro de espesor, pudiendo presentar un lado casi recto y otro convexo. En la cubierta seminal se destacan 6 a 10 costillas salientes de coloración más clara a espacios regulares. El papilo se presenta en forma de pequeña membrana tubulosa (Kissman & Groth, 1992).

Cada planta puede emitir entre 7 y 30 tallos; en cada uno se pueden originar de 3 a 8 capítulos. Cada capítulo produce unas 70 semillas viables, por lo tanto en infestaciones medias de esta maleza se estima que unas 4000 semillas por metro cuadrado caen al suelo en cada floración. Estas semillas permanecen viables por muchos años (Ríos & Giménez, 1993).

En condiciones de alta humedad los aquenios producen por uno de sus extremos un mucílago pegajoso, (Del Campo & Irazábal, 1994). Otras especies como *Cardus nutans* o en miembros de familias como *Plantago* y *Lipidium* o en plantas parásitas como *Acertholobium* presentan esta peculiaridad, (Faan, 1982). El mucílago está compuesto por ácido galacturónico y elementos celulolíticos (Fenner, 1992).

Las funciones del mucílago son diversas, siendo la principal la de adherir la semilla a objetos o animales, facilitando así su transporte y diseminación por animales, semillas de otras especies cultivadas, maquinaria, etc..

También contribuye con el éxito de la dispersión, puesto que la capacidad de germinar en condiciones de bajos potenciales hídricos esta determinada en muchos casos por su presencia (Chancellor, 1982). Por medio del mucílago la semilla se adhiere

fuertemente hasta que condiciones de humedad suficientes para la germinación, determinan su remoción (Del Campo & Irazábal, 1994). También en condiciones de excesiva humedad previene la germinación, formando una barrera a la difusión de oxígeno cuando se encuentra embebido en agua.

Cavanillesia sp. contiene grandes cantidades de mucílago en sus semillas y estas germinan en su ausencia, sin embargo en el establecimiento el efecto buffer que produce el mucílago retrasando la deshidratación por períodos prolongados, es en muchos casos indispensable para la sobrevivencia de la plántula (Fenner, 1992).

2.2. REQUERIMIENTOS DE FACTORES ABIÓTICOS

2.2.1. Temperatura

La temperatura es un factor crítico en la germinación de *C. myconis*, la alternancia de temperaturas determina mayores porcentajes e índices de velocidad de germinación. Las temperaturas óptimas para la germinación de esta especie son 10-20 °C (Del Campo & Irazábal, 1994). La sensibilidad de las semillas a la alternancia de temperaturas constituye un mecanismo de adaptación ecofisiológica, ya que previene la germinación cuando se encuentran enterradas a determinada profundidad en la cuál le sería imposible la emergencia del epicótilo. Las semillas pequeñas como las de *C. myconis* son particularmente sensibles a la alternancia de temperatura, poseen un mecanismo de dormancia en profundidad, favoreciendo la germinación cuando las semillas están próximas a la superficie del suelo donde el nivel de reservas no condicionaría el éxito del establecimiento de las plántulas (Wilson, 1982; Labouriau, 1983; Thompson & Grime, 1993; Wilson & McCarty, 1984; Egley, 1986).

2.2.2. Luz

El comportamiento de *C. myconis* se asemeja al de especies fotoblásticas positivas, ya que en presencia de radiación roja y completa el porcentaje e índice de velocidad de germinación son mayores que en oscuridad. Asimismo la germinación es mayor en la oscuridad que con luz rojo lejano (Del Campo & Irazábal, 1994).

Las semillas producidas en una misma época y aún en una misma inflorescencia, pueden presentar diferentes requerimientos lumínicos (Cavers & Harper, 1996). La inducción de los requerimientos de luz en las semillas ocurre en las inflorescencias sombreadas por plantas vecinas y también cuando la maduración se completa en las estructuras originales. El comportamiento diferencial puede estar determinado por la localización de las semillas en el capítulo, por el sombreado de pétalos y brácteas. Se determinan así diferencias en las condiciones a las que están expuestas las semillas durante la maduración; mayor transmisión de radiación roja lejano; y por lo tanto inducción de requerimientos lumínicos diferentes (Ríos, 1987).

2.2.3. Lluvia

El lavado que produce la lluvia remueve los inhibidores presentes en el tegumento de las semillas, incrementando el porcentaje y el índice de velocidad de germinación. Por acción del agua los inhibidores se disuelven, siguiendo un gradiente de concentración, y finalmente son removidos. Es así que se llega a una concentración crítica que permite el inicio del proceso germinativo (Black, 1970; Koller, 1972).

En condiciones de laboratorio, 18 horas de simulación de lluvia son suficientes para lograr los porcentajes e índices de velocidad de germinación más altos (Del Campo & Irazábal, 1994).

2.2.4. Estratificación

El frío por sí sólo, no ejerce efectos sobre el porcentaje y el índice de velocidad de germinación, pero hay una interacción entre frío y luz que afecta el índice de velocidad de germinación. En condiciones de laboratorio con 72 horas de frío y con radiación completa se determinaron los mayores índices, en cambio con 144 horas de frío, los mayores índices se determinaron con luz roja (Del Campo & Irazábal, 1994). En este caso la estratificación suplantaría las necesidades de luz para la germinación de la semilla (Andersen, 1968).

2.3. DISEMINACIÓN DE LAS SEMILLAS

Las principales formas de diseminación de esta maleza es a través de utilización de semilla de especies forrajeras mal maquinadas, y de la utilización de subproductos de maquinación. Avenas mal maquinadas han sido la principal causa de expansión de esta maleza y posiblemente una de las formas de introducción del país (Ríos & Giménez, 1993).

Otra forma de diseminación es a través del traslado de la semilla por cursos de agua, o por escurrimiento de áreas infestadas como banquinas, cunetas y retiro de rutas y caminos (Ríos & Giménez, 1993).

El traslado de maquinaria tanto agrícola como vial, contaminando no solo con semillas sino con trozos de tallos, es otra forma de diseminación (Ríos & Giménez, 1993) y uno de los factores que ha determinado su establecimiento en bordes de rutas y caminos. Por lo general las malezas que se establecen en estos lugares, son de ciclo anual pero también pueden establecerse alguna de ciclo bianual o perenne (Robbins et al, 1969).

La utilización de alimento para el ganado como fardos, henos, pajas o granos, que contenga semillas de esta maleza puede ser otra forma de introducción a los predios (Ríos & Giménez, 1993).

2.4. DISEMINACION DE SEMILLAS A TRAVES DE LOS ANIMALES

Los animales tanto salvajes como domésticos, pueden contribuir a la dispersión de un gran número de malezas muy problemáticas en nuestra agricultura, entre otras *Sorghum halepensis*, *Amaranthus retroflexus*, *Digitaria sanguinalis*, *Lolium multiflorum*, *Xanthium spinosum*, *Chenopodium album*, *Convolvulus arvensis*, *Echinochloa crus-galli* y *Rumex acetocella* (Atkenson et al ,1993; Harmon & Kleyn, 1934; Robbins et al, 1969; Takabayashi et al, 1979).

Los animales pueden transportar la semilla en forma externa o interna.

2.4.1. DISEMINACION EXTERNA

Externamente los animales pueden adquirir las semillas en forma pasiva, caminando a través de la vegetación, se adhieren a la piel o pelos de los animales (Fenner, 1989).

Diferentes partes de la planta pueden contribuir a la adherencia, incluyendo ramas de las inflorescencias, brácteas, glumas de pastos, lóbulos de perianto, cálices y corolas adhesivas (Hacker & Minson, 1981).

Características adaptativas tanto morfológicas como fisiológicas también pueden contribuir a la adhesión de la semilla. Así ocurre con semillas con barbas o aristas (*Andropogon bicornis*, *Bromus catarticus*, etc.), con las que tienen espinas (*Xanthium spinosum*, etc.), y las que tienen ganchos (*Galium mollugo*, *Bidens tripartita*). Algunas semillas pequeñas como las de *Ageratum conyzoides* y *Cynodon dactylon*, se alojan en forma temporal en el pelo de las patas de los animales (Robbins et al, 1969).

C.myconis cuenta con aquenios adhesivos como ya se menciono. Este tipo de aquenios se comporta en forma similar a las semillas con ganchos, se adhieren a plumas, piel o pelo por medio del mucílago (Hacker & Minson, 1981).

Una vez que la semilla se adhirió al animal, el subsecuente patrón de diseminación depende de un número de factores asociado con la morfología tanto de la semilla como del animal, y con el comportamiento de este (Fenner, 1992).

2.4.2. DISEMINACION INTERNA

Asimismo, los animales también pueden trasladar la semilla en forma interna, la pueden adquirir activamente a través de un proceso de selección de diferentes fruto o semillas, o pasivamente consumiéndolas incidentalmente con otros alimentos. Una vez ingerida la semilla puede permanecer en el tracto digestivo por períodos variables y posteriormente ser depositadas junto con sus deyecciones en lugares distantes (Fenner, 1992).



Un sistema especial de siembra en cobertura se aplica en las zonas de quebradas de Nueva Zelandia a través de las deyecciones de los animales. Con este objetivo se siembran pequeños semilleros en las áreas de suelos profundos, los que una vez que la semilla ha madurado, son liberados para ser pastoreados por el ganado, el cual posteriormente distribuye la semilla en la zona donde se desea introducir la especie en cuestión. Este mismo tipo de mejora, pero realizado en forma casual ha sido muchas veces citado por productores quienes atestiguan sobre el valor que tienen los animales para mejorar un campo, cuando provienen de pasturas de calidad y poseen en el aparato digestivo semillas de buenos pastos. Por supuesto que este efecto puede ser inverso y entonces lo que realmente se introducen son malezas, o especies de bajo valor forrajero (Carámbula)

Este es el caso de *Cynodon dactylon* y de *Sorghum halepense*, los cuales no solo pasan por el tubo digestivo sin mayores problemas sino que su viabilidad puede ser incrementada (Burton, 1948, citado por Carámbula).

La retención en el tracto digestivo por períodos específicos de tiempo, puede resultar tanto en la inducción de la germinación como en la muerte de la misma (Fenner, 1992). Muchas semillas mueren durante el pasaje por el animal, como consecuencia de una digestión parcial de la cubierta seminal y la penetración de jugos digestivos que agotarían las reservas y destruirían el embrión (Fenner, 1992), no obstante, sería considerable el número de semillas que pueden llegar a germinar (Robbins et al, 1955). La germinación de semillas observada en las heces de ganado podría explicar como muchas especies herbáceas, con pequeños frutos secos o semillas en cápsulas están tan ampliamente diseminadas. Posiblemente sin esta suerte de dispersión no tendrían mayores posibilidades de trasladarse a nuevas áreas (Harper, 1977).

Semillas de tamaño pequeño tienen mayor probabilidad de escapar a la masticación y una mayor velocidad de pasaje siendo en muchos casos directamente defecadas, escapando a la regurgitación y segunda masticación de los rumiantes antes de que la ingesta llegue al omaso y abomaso donde continuará la digestión (Galvez & Agar, 1971; Mehrez & Orskov, 1976; Fenner, 1992; Monson & Utley, 1974).

En general parecería que el mayor éxito para pasar através del tubo digestivo sin ser afectadas, lo logran las semillas duras. Si las semillas no están maduras son destruidas por masticación y digestión y en caso de que germinen en las deyecciones, muchas sucumben en el proceso de fermentación que ocurre en las mismas (Carámbula).

El vigor inicial de las semillas influirá en la reducción de la germinación atribuible al pasaje por el tracto digestivo (Poljakoff & Mayber, 1989), así como el grado de madurez de la semilla al momento de la ingestión (Robbins, et al, 1969).

En un trabajo con ovinos se recuperó el 30% de las semillas de trébol blanco si la muestra tenía alto porcentaje de semillas duras y solo el 3 % de una muestra de semilla comercial escarificada (Suckling, 1952; citado por Carámbula).

El animal en si, por su edad y condición física y la ración que ingiere puede tener efecto sobre estos porcentajes (Robbins, et al, 1969). No obstante en la mayoría de los trabajos realizados no se encuentran diferencias en los efectos de la digestión de animales de una misma especie (Weakley, et al, 1983; Urén, et al, 1984).

El tipo de cubierta seminal también influye en la supervivencia de la semilla. En general en semillas con cubierta seminal delgada se produce mayor reducción de la viabilidad, debido a que son mas afectadas por la masticación. Semillas con cubierta seminal dura no se rompen por la masticación de bovinos o caballos, no obstante, algunas cubiertas se remueven posteriormente durante el proceso de digestión (Robbins, et al, 1969).

La alta digestibilidad de semillas y granos está generalmente asociada al bajo contenido de fibra bruta y a una alta concentración de carbohidratos fácilmente hidrolizables por el aparato digestivo animal. Estos carbohidratos constituyen las reservas energéticas que deben mantener a la plántula luego de la germinación hasta que esta se vuelva autosuficiente (Hacher & Minson, 1981).

2.4.3. EFECTO DE ORGANOS DIGESTIVOS Y TIEMPO DE PERMANENCIA

Una vez ingerida la semilla, el tratamiento interno al que se verá sometida, dependerá de los procesos físicos y químicos que se realizan durante la digestión, y de el efecto adicional que tiene el tiempo de exposición a los mismos (Fenner, 1992).

2.4.3.1. BOCA

El porcentaje de semillas viables recuperadas, varía dependiendo de la especie y está correlacionado con la agresividad de la masticación (Robbins, et al, 1969).

Los bovinos excretan mayor cantidad de semillas enteras que los equinos y estos a su vez más que los ovinos (Harmon y Klein, 1934). Las ovejas son mas eficientes y minuciosas en la masticación que las vacas y otros animales, es por esto que en experimentos con *Cupina vulgaris* no se encontraron aquenios en sus heces, en cambio en caballos, ciervos y vacas se excretaron 5, 3 y 25 % respectivamente de los aquenios consumidos (Donald, et al, 1986).

La saliva secretada esencialmente por las glándulas parótidas es una solución buffer (ph 8,2) de bicarbonatos y fosfatos de sodio y de potasio, que contiene asimismo urea en un porcentaje similar al del plasma sanguíneo, (Busto & Byerly, 1979). La saliva de los rumiantes contiene grandes cantidades de álcali combinada con ácido carbónico. Se cree que el álcali es importante por romper la resistencia de algunas partes de la planta, también se considera como una importante fuente de agua al rumen y como neutralizadora de ácidos producidos en la fermentación (Hugarte, 1966).

2.4.3.2. RUMEN

El rumen representa un sistema de fermentación continua que favorece la proliferación de una población microbiana extremadamente densa y activa: del orden de diez millones de protozoos y cien millones de bacterias.

El contenido del rumen de un animal dado varía entre límites muy amplios con la composición de la ración y está estrechamente ligado a la cantidad de materia orgánica no digestible ingerida, y más todavía a la cantidad de fibra indigestible. Aumenta con la proporción de tejidos lignificados y componentes de las membranas(% de fibra bruta) en la ración, porque estos últimos son más resistentes a la desintegración y deben permanecer un mayor tiempo en el rumen.

La población bacteriana es responsable de la mayor parte de la degradación de la ingesta en el rumen. Se caracteriza por elevada densidad, extrema complejidad, predominancia de anaerobios estrictos y por la presencia de bacterias celulolíticas capaces de degradar las membranas vegetales.

Los protozoos del rumen son de variadas especies y características, perteneciendo en su mayoría a dos tipos principales: los holotridos y oligotridos. Los primeros fermentan rápidamente la sacarosa y las fructosanas y los segundos ingieren y digieren granos de almidón, cloroplastos y partículas de tejidos celulósicos. Mediante su intervención, los dos tipos de protozoos reducen la cantidad de glúcidos rápidamente fermentecibles disponibles para la población bacteriana, regulando así la velocidad de fermentación (Sutton & Oldham, 1977).

Durante la degradación microbiana, los polímeros de carbohidratos, son hidrolizados a sacáridos más pequeños que posteriormente se fermentan y se convierten en diferentes productos. Este proceso se realiza en tres etapas. La primera etapa incluye el ataque a las partículas de las plantas y la disociación de los polímeros de carbohidratos de las matrices de las células estructurales. La segunda etapa es la hidrólisis de los polímeros removidos a sacáridos mas pequeños, y esta catalizada por numerosas enzimas extracelulares, dentro de las cuales los tipos predominantes son las

de los complejos celulolíticos. La etapa final es la fermentación intracelular de los pequeños sacáridos (Russel & Hespell, 1981).

Las proteínas también son degradadas por los microorganismos del rumen, (principalmente por bacterias), formándose a partir de estas, amonio, dióxido de carbono y ácidos grasos de cadena corta, ramificados y aromáticos (Russel & Hespell, 1981).

Durante estos procesos el rumen se mantiene a temperatura constante de 39 ° C y las secreciones de saliva, por su contenido de bicarbonatos y fosfatos junto con las proteínas actúan como buffers tratando de mantener el ph entre 6 y 7,6 (Dukes, 1960). Normalmente el ph del rumen se mantiene entre 6,3 y 7 por la acción de las sales derivadas de la saliva, plasma, y plantas que actúan como buffers ante los ácidos producidos por la fermentación (Phillis, 1976).

2.4.3.3. OMASO

Al igual que otros preestomagos el omaso, no tiene secreciones digestivas. A través de su pared absorbe cierta cantidad de agua, minerales (sodio, bicarbonatos), ácidos grasos volátiles y amoníaco (Rots & Muck, 1994).

El omaso es un compartimiento especial para comprimir y absorber, que conecta con la subdivisión secretora del abomaso. La función del omaso es comprimir partículas y absorber agua, ácidos, otras sustancias (Hungate, 1966).

La función del omaso en el proceso de la ingesta es prácticamente muscular (Phillis, 1976).

2.4.3.4. ABOMASO

El abomaso corresponde en función a la región pilórica del estómago de los animales no rumiantes. El epitelio está bien suplementado con células secretoras especializadas que producen mucus, pepsina y ácido clorhídrico. En el extremo

posterior del abomaso, el esfínter duodenal controla el pasaje de la digesta al duodeno (Phillis, 1976).

La digesta llega al abomaso y se detiene por 30 minutos a 1 hora. El contenido del abomaso es diluido y acidificado (hasta bajar el pH a 2 ó 3) por una secreción abundante y continua de ácido clorhídrico y de jugo gástrico, rico en pepsina y que no contiene prácticamente lipasa. La acidez destruye protozoos y bacterias e hidroliza los enlaces entre proteínas y aléhdidos. En el abomaso se absorben esencialmente los AGV que no han sido absorbidos en el omaso. Las proteínas sobrepasantes a nivel de rumen son digeridas en el abomaso (Meherez & Orskov, 1976).

2.4.3.5. DUODENO

La digesta pasa del abomaso al duodeno en forma de chorros a intervalos promedio de 2 minutos. Este paso es constante y determina una secreción continua de bilis y de jugo pancreático. El tránsito es muy rápido en el duodeno y yeyuno, y mucho más lento en el íleon, donde la digesta se detiene tanto más tiempo cuanto menor es el nivel de nutrición.

Los mecanismos de la digestión y de la absorción en el duodeno son iguales a los que existen en los monogástricos; las enzimas específicas de la digestión de los ácidos nucleicos microbianos, tales como las nucleasas del jugo pancreático.

El almidón que ha escapado a la degradación microbiana en el rumen, es digerido en su mayor parte en el duodeno; el resto es fermentado por la población microbiana en el intestino grueso. Sin embargo estas dos últimas actividades amilolíticas pueden ser insuficientes cuando el almidón llega en cantidades muy importantes al duodeno, en donde no se detiene el tiempo suficiente (Monson & Utley, 1974).

2.4.3.6. TIEMPO DE PERMANENCIA

El tiempo de permanencia de la ingesta en el tracto digestivo es variable, y depende de la composición de la dieta y la cantidad de fibra. En novillos se ha

determinado un promedio de 61 horas en el rumen y retículo, 7,9 horas en el omaso y 2,8 horas en el abomaso. Para vacas lecheras y considerando el pasaje completo por el tracto, se ha determinado una lenta excreción del 10% del residuo entre las 12 y 24 horas, una excreción más rápida del 80 % del residuo en el entorno de 70 a 90 horas, completándose la excreción en forma lenta entre 7 y 10 días (Dukes, 1960).

El tiempo de permanencia en el rumen varía entre 1,5 días para forrajes tiernos hasta 5 días para forrajes toscos, (Woodward, 1941).

Normalmente las semillas empiezan a aparecer en las heces a las 24 horas de ser ingeridas y llegan a un máximo entre el segundo y el cuarto día, observándose su presencia hasta dos semanas después (Carámbula).

En trabajos realizados con *Sorghum halepense* la mayor cantidad de semillas se excretaron al segundo día desde la ingestión y a partir del cuarto día ya no se encontraban semillas en los excrementos (Robbins, Crafts & Raynor, 1969).

Semillas de *C. myconis* colocadas en el rumen de ovinos fistulados, tuvieron una reducción en el porcentaje de germinación del: 5, 16, 23, 24 y 43 % para tiempos de permanencia en el rumen de 6, 12, 24, 48 y 72 horas respectivamente. El índice de velocidad de germinación, también tuvo una importante reducción siendo del: 3, 19, 24, 29 y 54 para los tiempos antes mencionados. A medida que el tiempo de permanencia aumentaba se constató un mayor debilitamiento de la cubierta seminal (Godiño, 1995).

Cuanto mas prolongada la permanencia de las semillas en el tracto digestivo mayor resulta la reducción de la germinación. En *Amaranthus retroflexus* con una germinación original de 98%, se determinaron germinaciones de 36% después de 47 horas de permanencia llegando a disminuir al 3 % después de 97 horas de tratamiento. En *Rumex crispus*, con una germinación original de 95 % se observaron germinaciones de 58 % después de 47 horas de digestión y 28 % después de 59 horas. Para *Chenopodium album*, con germinación original de 70 %, se cuantificaron germinaciones de 58 % después de 47 horas y de 46 % después de 59 horas; también en *Saponaria*

vacaria con germinación original del 98 %, esta se redujo a 24 % después de 59 horas de permanencia.

Germinaciones en el orden del 11% en *Abutilon abutilon* , 7 % en *Convulvulus arvensis*, 26 % en *Rumex acetocella*, 1 % en *Poligonum pennsylvanicum* y 33 % en *Lipidium draba* se lograron con periodos de permanencia entre 0 y 48 horas; tratamientos mas prolongados de hasta 80 horas lograron germinaciones de 3 % en *Abutilon abutilon* , 2 % en *Convulvulus arvensis*, 13 % en *Rumex acetocella*, 0 % en *Poligonum pennsylvanicum* y 7 % en *Lipidium draba* (Harmon y Klein, 1934).

Permanencias de 48 horas ya producen considerables reducciones en la germinación, se han determinado reducciones del 92 % en *Melilotus officinalis* , 83 % en *Plantago lanciolata*, 76 % en *Cuscuta planiflora*, 86 % en *Avena fatua*, 96 % en *Sisimbrium altissium* y 97 % en *Salsola pestifer* (Atkenso n, et al , 1933).

MATERIALES Y METODOS

Para determinar el efecto del pasaje por el tracto digestivo, se simularon en laboratorio las condiciones de sus principales órganos. Para crear las condiciones de rumen, omaso y abomaso se adaptó la metodología de Tylley y Torry y para el pasaje por duodeno se utilizó la técnica propuesta por Cozzolino, D..

Se pesaron muestras de 1.5 gr. de semillas maduras de *C. myconis* mantenidas en condiciones de laboratorio desde diciembre de 1994 y se colocaron en bolsas de tela de serigrafía.

BOCA Y RUMEN

Se preparó la solución buffer (saliva) de acuerdo a la metodología de Mc. Dougall. Se utilizaron 7,4 gr. de Na_2HPO_4 que se diluyeron en un litro de agua destilada y se llevaron a un agitador con temperatura durante 5 minutos. Posteriormente se agregaron 18.6 gr. de NaHCO_3 disueltos en 1 litro de agua destilada, y por último 20 ml. de solución madre.

Se extrajo contenido ruminal de un capón fistulado alimentado con heno de alfalfa. El licor ruminal fue filtrado.

Se mezclaron la saliva y el licor ruminal y se saturó la solución con CO_2 a temperatura de 39 °C.

Las bolsas de tela de serigrafía conteniendo semillas, fueron colocadas en tubos de ensayo, agregándosele 60 ml. de la solución de saliva y licor ruminal y sellando con tapones de goma con válvula para remover gases. Los tubos se mantuvieron en fermentación durante 12,24 y 48 horas, en oscuridad a 39 °C, agitándose dos o tres veces por día.

OMASO Y ABOMASO

Las bolsitas fueron removidas y lavadas con agua destilada hasta diluir la coloración. Posteriormente se colocaron nuevamente en los tubos, agregándose una solución de pepsina (5 gr.) y HCl 1 normal (250 ml), diluidos en agua destilada, encubándose por 24 horas más.

DUODENO

Para simular el pasaje por el duodeno se utilizó licor duodenal de un capón recién sacrificado. Se separó el duodeno del resto de las vísceras y se extrajo el licor, diluyéndolo en agua destilada en una proporción 1:9.

Se determinó el ph resultando 6,62 por lo que no hubo necesidad de correcciones.

Las muestras se lavaron nuevamente y fueron incubadas con 40 ml de esta solución por 24 horas más.

PREPARACION

Posteriormente las bolsas fueron lavadas con agua destilada por aproximadamente 90 segundos. Una parte de las semillas fueron colocadas inmediatamente en cámara de germinación en cajas de germinación de 11 por 11 cm. , sobre papel de filtro previamente humedecido con 18 ml. de agua destilada y fungicida en dilución de 1 gr. por litro (tiram +iprodine). La otra parte se sometió a un tratamiento previo de quiebre de dormancia, que consistió en un período de 72 horas de estratificación, en cámara refrigerada a 5 °C y 18 horas de simulación de lluvia haciendo correr agua a través de las mismas bolsas de serigrafía.

CAMARA DE GERMINACION

El régimen en cámara de germinación fue de 16 horas de oscuridad y 8 horas de luz, con temperatura alterna de 10 y 20 °C respectivamente (Del Campo & Irazábal, 1994).

CONTEOS

Se realizaron conteos cada tres días a partir del quinto día de instalado el experimento y se determinó el porcentaje e índice de velocidad de germinación (IVG).

CALCULO DE IVG

Para determinar el índice de velocidad de germinación se utilizó la formula propuesta por Maguire (1962):

$$IVG_{44} = \sum \frac{N_i}{i} \quad i = 5, 9, 12, \dots, 44.$$

Donde :

IVG_{44} = Índice de velocidad de germinación hasta los cuarenta y cuatro días.

N_i = Numero de semillas germinadas hasta el día i y que no existían en los conteos anteriores.

i = Numero de días de iniciado el experimento.

DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental utilizado fue completamente aleatorizado, con 10 repeticiones de 50 semillas cada una; los tratamientos constituyeron en un arreglo factorial de dos tratamientos de quiebre de dormancia \times cuatro tiempos de permanencia en el tracto digestivo. Para el análisis de los resultados se utilizó el programa estadístico SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las semillas que se sometieron a tratamiento de quiebre de dormancia no germinaron, por lo que se analizaron estadísticamente las correspondientes a los tratamientos sin quiebre.

En base al análisis estadístico se puede determinar para las variables porcentaje de germinación e índice de velocidad de germinación, efecto significativo entre los tratamientos de distintos períodos de permanencia en el tracto digestivo; reduciéndose estas cuanto mayor fue el período de permanencia considerado (*Cuadro 1*). Esto concuerda con los resultados obtenidos por Godiño (1994); en un experimento donde se sometieron semillas de *C. myconis* al ambiente ruminal, colocando las semillas directamente al rumen utilizando capones fistulados.

Cuadro 1: Reducción de la germinación y del índice de velocidad de germinación en los diferentes períodos de tiempo.

Horas	Germinación. %	Reduc. Ger. %	IVG	Reduc. IVG
0	43,8	0	2,4	0
60	18,2	58,4	0,7	69,1
72	2,4	94,5	0,1	97,4
84	1,6	96,3	0,1	97,9

La permanencia en el tracto digestivo disminuyó el porcentaje y la velocidad de germinación, siendo más drásticos los efectos cuanto mayor el tiempo de permanencia.

Períodos de permanencia de 60 horas denotan una importante disminución en el porcentaje de germinación con respecto al testigo (cuadro 1), pero la magnitud del efecto es drástico con permanencias mayores, siendo del 94 y 96 % para 72 y 84 horas respectivamente; igualmente notorias son las reducciones en los IVG correspondientes llegando a ser del 98% (*Figural*).

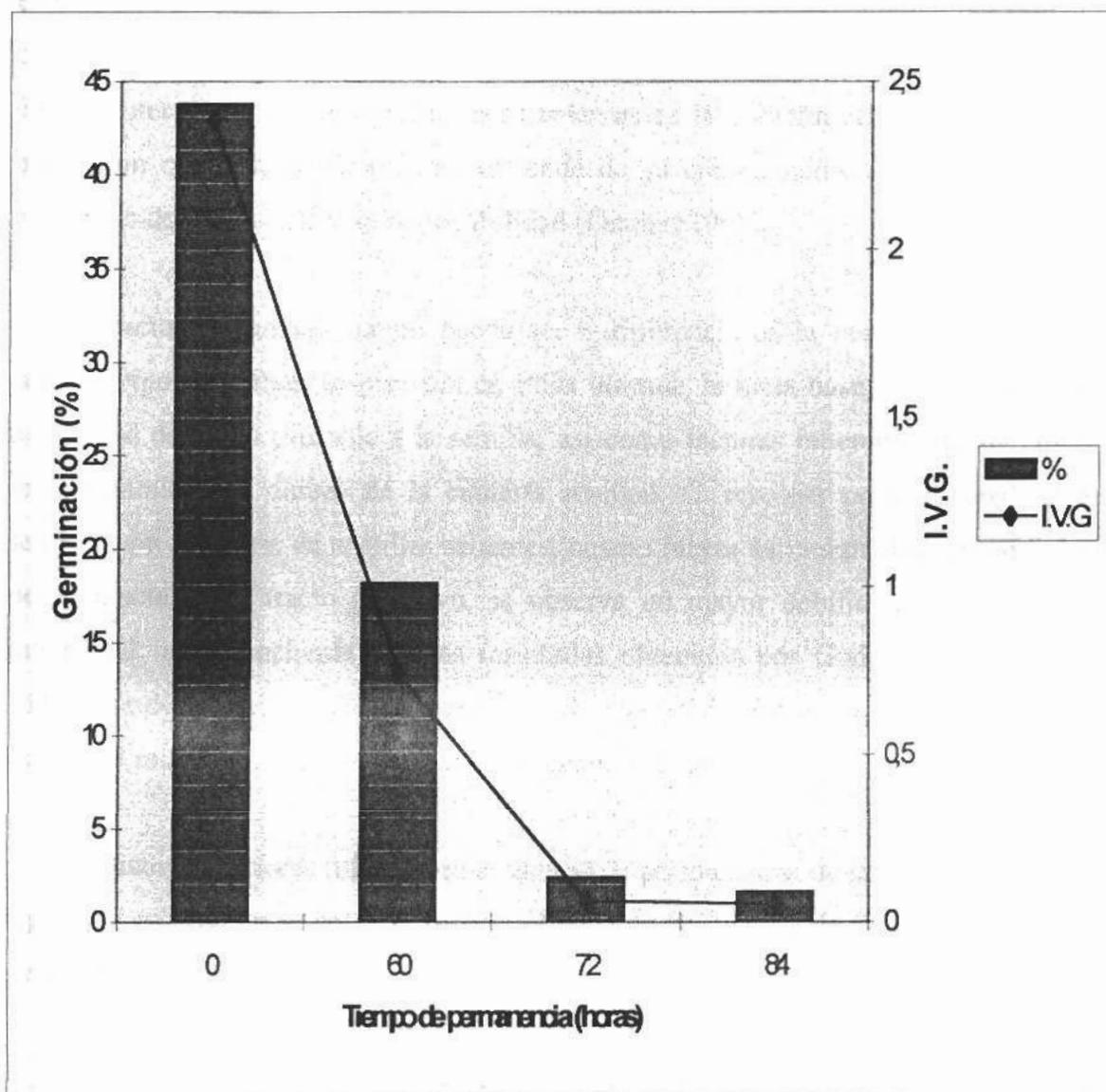


Figura 1: Porcentaje de germinación e índice de velocidad de germinación en los distintos tiempos de permanencia.

Godiño (1994), determinó que 6 horas de permanencia en el rumen no afectaban significativamente la viabilidad de la semilla, con respecto al testigo, esto quizás debido a que en este corto período no se llegue a afectar partes vitales del embrión o significativamente las reservas; con períodos de 12 horas de permanencia en el rumen se comienza a manifestar el efecto de microorganismos y enzimas reduciendo la germinación de las semillas en un 17 %.

El pasaje por el tracto digestivo produciría una degradación de la cubierta seminal que permitiría el ataque de microorganismos y enzimas a las reservas y al embrión de las semillas. Estas reservas están constituidas principalmente por polímeros de carbohidratos fácilmente hidrolizables en el rumen (Hacker & Minson; 1981), la única protección con que cuentan estas reservas es la cubierta seminal y el grado de protección que esta pueda proveer depende de su composición, especialmente de su contenido de fibra cruda y su permeabilidad (Fenner, 1992).

Factores animales, como puede ser la diferencia en la masticación que existe entre bovinos y ovinos, más severa en estos últimos, la dieta base, etc., influyen en la intensidad del daño causable a la semilla, así como factores inherentes a esta como la impermeabilidad y dureza de la cubierta seminal. *C. myconis* presenta una cubierta seminal con una serie de costillas salientes, cuanto mayor es la duración del período de permanencia en el tracto digestivo, se observa un mayor debilitamiento de la zona intercostal; esto concuerda con los resultados obtenidos por Godiño (1994), donde además se determinó un claro deterioro en el extremo de la semilla donde se produce y excreta el mucílago, reduciéndose la producción de éste.

Distintos factores influyen en el tiempo de permanencia de la ingesta en el tracto digestivo, en bovinos se determinó promedialmente un período de 61 horas en el rumen y retículo 7,9 horas en omaso y 2,8 horas en abomaso.

El tamaño de las partículas ingeridas influye en la velocidad de pasaje, esto supondría tiempos de permanencia menores para las semillas de *C. myconis* debido a su escaso tamaño.

El tamaño pequeño además de disminuir el tiempo de permanencia, le permite que prosiga el recorrido del tracto, evitando la regurgitación y segunda masticación de los rumiantes (Thill, et al, 1986; St Jhon, et al 1990); Fenner.1992; Gardener, et al, 1993), aunque la posterior etapa de digestión se logre la remoción de cubiertas de semillas (Robbins, et al 1969).

Comparando los resultados del experimento que analiza la germinación luego del pasaje por el rumen y los resultados obtenidos analizando la germinación luego del pasaje por el total del tracto digestivo se puede apreciar que una buena parte de la reducción de la germinación se produce después que la semilla ha sobrepasado el rumen (Figura 2y3).

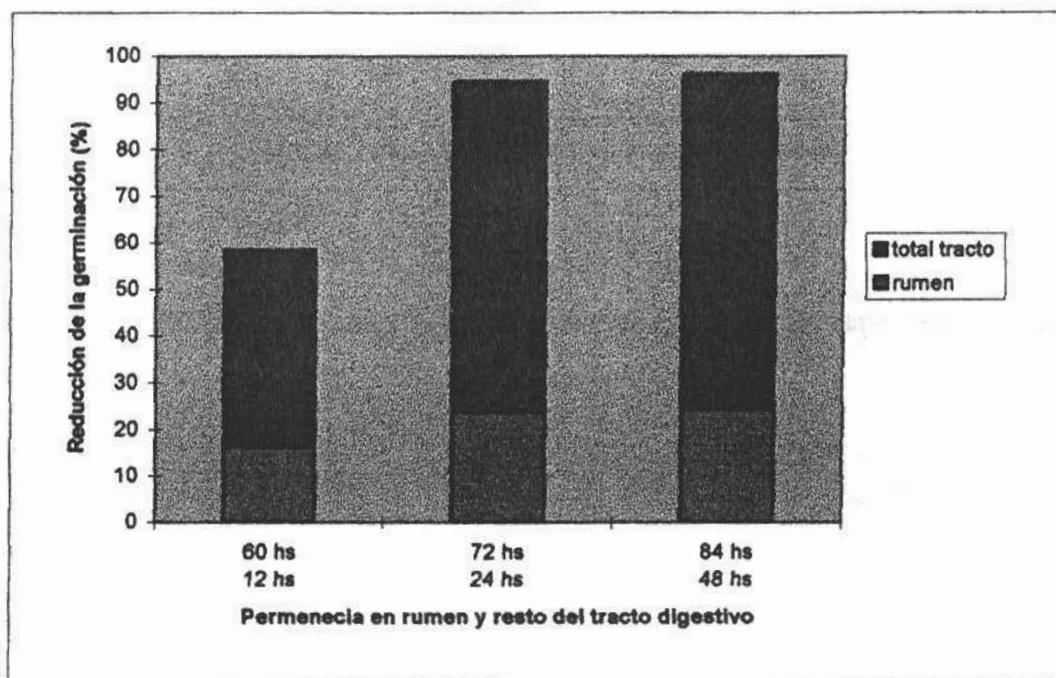


Figura 2: Porcentaje de la reducción de germinación en ambiente ruminal y resto del tracto digestivo.

Dado que la función del omaso en el proceso de la digestión es prácticamente muscular y no aporta secreciones digestivas, es probable que este órgano no tenga un efecto considerable en cuanto a afectar la viabilidad de la semilla; aunque en condiciones naturales podría contribuir ya que su función es la de comprimir partículas.

Este efecto se evidencia en la diferencia en cuanto al porcentaje de germinación, que se observa entre semillas que solo se sometieron al ambiente ruminal con respecto a las que se sometieron a condiciones que simulaban la totalidad del tracto digestivo.

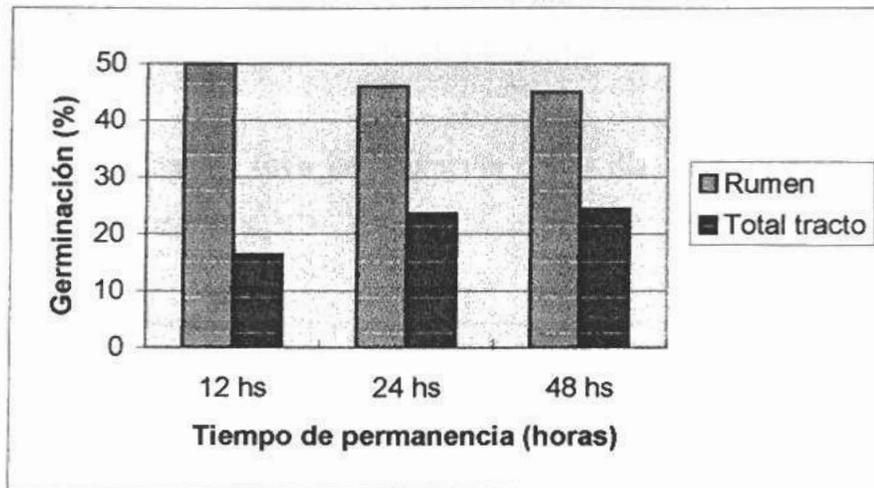


Figura 3: Germinación de semillas sometidas a ambiente ruminal y a la totalidad de tracto.

Probablemente la parte más significativa del efecto del pasaje por el tracto digestivo se da durante la permanencia en el abomaso y duodeno.

En el abomaso se produce una secreción de mucus, pepsina y ácido clorhídrico que diluye y acidifica las partículas ingeridas llegando a pH de 2 y 3. Esta acidez hidroliza los enlaces entre proteínas y aléhdidos, por lo que parte de las proteínas de la semilla que hallan sobrepasado el rumen se pueden ver afectadas en este órgano. El resto de la proteína afectada se digiere en el duodeno, donde las semillas se enfrenta a una secreción de bilis y jugo pancreático.

Es probable que en este órgano sea donde se afecta más las reservas de las semillas dado que el almidón y los glúcidos que han escapado a la degradación microbiana del rumen son en gran parte digeridos aquí.

Las reservas de la semilla también se ven afectadas posteriormente por la población microbiana del intestino grueso.

La mayor disminución de la germinación se da después de sobrepasado el rumen, dado que si bien en el rumen se produce una buena parte de la digestión, en los primeros órganos del tracto digestivo la cubierta seminal que es la que provee mayor protección estaría menos afectada, a medida que la semilla avanza en su recorrido por el tracto la protección que provee la cubierta va disminuyendo.

El flujo de germinación tuvo una duración de 37 días con un pico que osciló entre los 9 y 12 días (*Figura 4*).

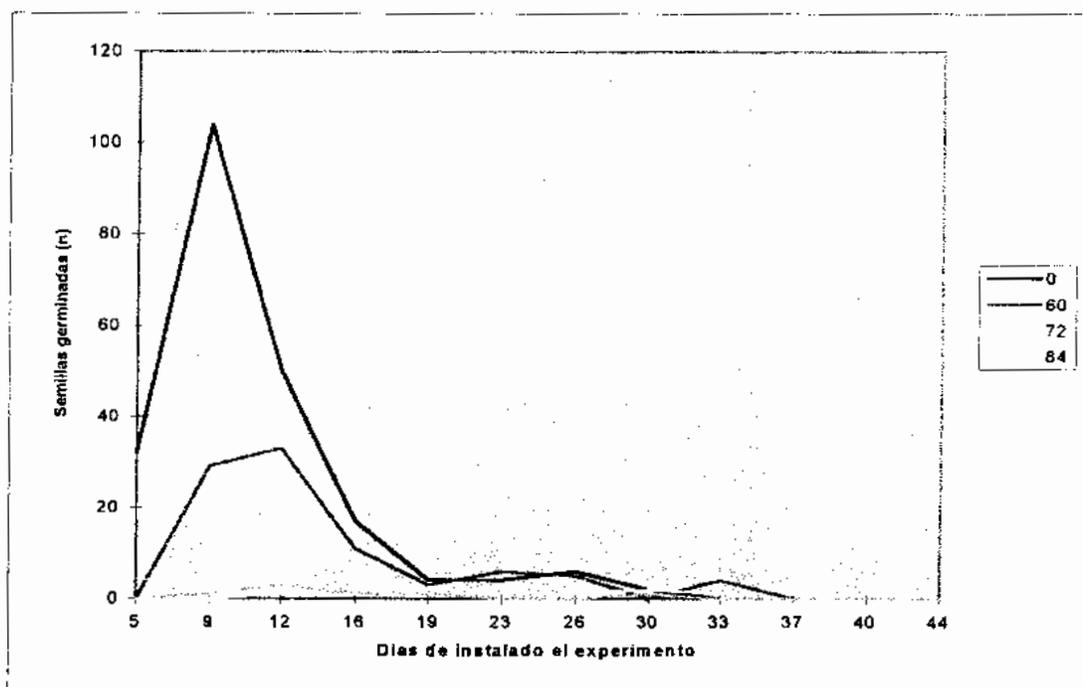


Figura 4: Flujo de germinación durante los 44 días del experimento.

Las semillas a las que se les realizó el tratamiento de quiebre de dormancia posteriormente al de pasaje por el tracto, no germinaron, esto puede ser explicado por una sumatoria de estreses, debido a que la estratificación y el lavado en este caso no estarían alterando la concentración de inhibidores, sino que ejercen un stress adicional a la semilla que reduce su viabilidad.

Esto concuerda con los datos obtenidos por Godiño (1994) donde semillas de *C. myconis* sometidas a un ambiente ruminal, redujeron el porcentaje e índice de velocidad de germinación en una forma más drástica si se les había efectuado el tratamiento de quiebre de dormancia. También en *Convulvulus arvensis*, *Melilotus alba*, *Rumex*

acetocella y *Xantium comune*, tratadas con ácido sulfúrico como método de inducción de germinación se encontraron resultados similares (Harmon & Klein, 1934).

CONCLUSIONES

Las semillas con quiebre de dormancia sometidas a distintos períodos de tiempo en el tracto digestivo no germinan.

Las semillas que fueron colocadas en forma inmediata a germinar (sin tratamiento de quiebre) tuvieron una disminución en el porcentaje y la velocidad de germinación.

La reducción de los porcentajes de germinación ocurridos con 72 y 84 horas de permanencia, evidencian que los animales no actuarían como medio de dispersión de las semillas en forma interna.

La reducción en el índice de velocidad de germinación fue del orden del 70 % para el tratamiento de 60 horas de permanencia y del 97 % en los mayores períodos, denotándose los severos daños ocurridos a la semilla.

Períodos de 74 horas de permanencia en el tracto digestivo animal ya sería suficiente para impedir la dispersión de esta maleza por este medio; pero esto debe considerarse como una medida paliativa ya que es imprescindible impedir la floración de la maleza, entre otros factores porque de todos modos el animal es capaz de dispersar semillas externamente.

RESUMEN

Muchas especies de plantas entre ellas gran cantidad malezas utilizan a los animales como medio de dispersión de sus semilla; el animal puede llevar semillas externa e internamente, cuando las semillas son ingeridas por el animal, estas sufren el proceso de digestión, este proceso puede actuar removiendo cubiertas y sustancias inhibitoras favoreciendo la germinación, así como disminuyendo el vigor de las semillas degradando reservas y dañando el embrión.

Evaluar el efecto del pasaje por el tracto digestivo sobre semillas de *C. myconis* es importante debido a que es común el pastoreo de chacras infectadas con esta maleza, por lo que el pastoreo puede ser un medio de dispersión para la maleza o de lo contrario una medida de control adicional.

Para este experimento se simularon en laboratorio las condiciones de digestión y se trataron semillas de *C. myconis* por diferentes periodos de tiempo. Se preparó una solución buffer con Na_2HPO_4 , NaHCO_3 , agua destilada y solución madre simulando la saliva, se extrajo contenido ruminal de un capón fistulado se mezcló con la saliva y se saturó con CO_2 a 39°C . Las semillas colocadas en bolsas de tela de serigrafía fueron introducidas en la solución de saliva y licor ruminal por 12, 24 y 48 horas, en oscuridad. Posteriormente se colocaron en una solución de pepsina y HCl diluidos en agua destilada por 24 horas más, para simular condiciones de omaso y abomaso. Para el pasaje por el duodeno se utilizó licor duodenal extraído de un capón recién sacrificado, fue diluido en agua destilada en una proporción 1:9 y se determinó ph para posible corrección. Las semillas permanecieron en esta solución por 24 horas más. Posteriormente una parte de las semillas se colocaron directamente en cámara de germinación en un régimen de 16 horas de oscuridad y 8 de luz; con temperatura alterna de 10°C y 20°C respectivamente. La otra parte de las semillas se sometieron a un tratamiento previo de quiebre de dormancia, que consistió en 72 horas de estratificación, a 5°C y 18 horas de simulación de lluvia. Se realizaron conteos cada tres días a partir del quinto día de instalado el experimento y se determinó porcentaje e índice de velocidad de germinación.

Las semillas sometidas al tratamiento de quiebre de dormancia no germinaron debido a una sumatoria de estreses. Las semillas que fueron colocadas directamente en cámara de germinación tuvieron una reducción en el porcentaje y la velocidad de germinación. La magnitud de la reducción de los porcentajes de germinación ocurridos con 72 y 84 horas de permanencia, evidencian que los animales no actuarían como medio de dispersión de las semillas en forma interna; ya que la velocidad de germinación desciende en un 70 % en el tratamiento de 60 horas y el 97 % en los mayores períodos denotándose un severo daño a la semilla.

Si bien en el rumen se produce una digestión de la cubierta seminal y posiblemente de estructuras internas, es en los procesos digestivos posteriores donde las semillas sufren un mayor daño.

Períodos de 72 horas de permanencia en el tracto digestivo sería suficiente para impedir la dispersión de esta maleza por este medio, pero el hecho de que el animal puede dispersar las semillas externamente, implica que sea imprescindible que se impida la floración, con lo cual el pastoreo de esta maleza se convierte en una medida paliativa.

SUMMARY

Many plant species among them a great number of weeds uses animals as a way of dispersion of their seeds, the animals can disperse seeds in an internal or external way. Whenever the animals eats the seeds, the digestion process removes inhibitory substances from the seed coat, and these turns aids of the germination process, on the other hand the same process can decrease seed vigour harming the embryo and seeds reserves.

Evaluating the effect of the passage for the digestive tract on seeds of *C. myconis* is important because shepherding of fields infected with this weed, could become either a spreading way or an additional tool for an integrated weed control.

In these experiment the conditions of digestion were simulated in laboratory and seeds of *C. myconis* were treated for different periods of time. A buffering solution including Na_2HPO_4 , NaHCO_3 , distilled water and mother solution was done to simulate saliva, the ruminal content was extracted from a cannulated cheviot sheeps, mixed with the buffering solution and saturated with CO_2 . Seeds were placed in this solution remaining for 12, 24 and 48 hours, in darkness. Subsequently they were placed in a solution of pepsin and HCl diluted in distilled water for 24 hours more to simulate omase and abomase conditions. To simulate the duodene conditions, duodenal liquor was extracted from a recently dead sheep. This liquor was diluted in distilled water in a 1:9 proportion. pH was determined for possible corrections. The seeds remained in this solution for 24 more hours. Subsequently one half of this seeds were immediately tested for germination in 16 hours of dark and 8 hours of light conditions, with 10-20°C alternate temperature. The other half of the seeds were previously treated to break the dormancy, they had 18 hours of rain simulation and 72 hours of stratification (5°C), after being tested. The germinated seeds were counted every 3 days, and the percentage and germination rate were determined.

The seeds that were treated for dormancy break didn't germinate due to an addition of stress. The seeds who were directly tested for germination had a reduction on the germination percentage and speed. The magnitude of the reduction in the germination percentage occurred in 72 y 84 hours of treatment evidences that the animal could not be a dispersion way. Period of 72 hours in the digestive tract will be enough to prevent the dispersion of this weed seeds by this way, but nevertheless the animal can spread the

seeds externally, so it is quite important to prevent this weed flowering. Then shepherding becomes just a palliative tool.

BIBLIOGRAFIA.

1. ANDERSEN, R.N. 1968. Germination and establishment of weeds for experimental purposes. Urbana, Ill., Weed Science Society of America. p. 236.
2. ATKENSON, F.W.; HULBERT, H.W.; WARREN, T.R. 1939. Effect of bovine digestion and of manure storage on the viability of weed seeds. Journal of the American Society of Agronomy. Vol.31.: 390- 397.
3. BLACK, M. 1970. Seed germination and dormancy. Sci. Progress 58.: 379-393.
4. BUSTO, M.; BYERLY, F. 1979. Influencia del volumen de inóculo ruminal y tiempo de incubación sobre la digestibilidad in vitro de forrajes. Agric. Tec. Mex. 5 (1): 21-29.
5. CARAMBULA, M. Implantación y manejo de pasyuras sembradas. Montevideo Ed. Emisferio Sur. 103 – 156.
6. CAVERS, P.B.; HARPER, J.L. 1966. Germination polymorphism in *Rumex crispus* and *Rumex obtusifolius*. J. Ecology, 54: 307-382.
7. CHANCELLOR, R.J.; 1982. Weed seed investigations. Advances in Research and Technology of seeds 2: 9-29.
8. COZZOLINO, D.; FIGURINA, G.; METHOL, M.; ACOSTA, Y.; MIERES, J.; BASSEWITS, H.; 1994. Guía para la alimentación de rumiantes. 2ª ed. INIA. Uruguay. Serie técnica 44. :102 p.
9. DEL CAMPO , M.; IRAZABAL, P. Y RIOS, A. 1995. Germinación de semillas de *Coleostepus myconis*. Incidencia de factores ambientales. In: Congreso Latinoamericano de malezas (12.,1995, Montevideo, Uruguay). Conferencia y trabajos. De Rios, A. Y Frenandez, G. Uruguay. INIA. Serie técnica N° 56. : 195 – 204.

10. DUKES, H. H. 1960. Fisiología de los animales domésticos. Traducido por Castejon, F. 7ª Edición. España, Editorial Aguilar. 962 p.
11. DONALD, C.; DAVID, L.; DONALD, L.; 1986. The germination and viability of excreted Common Crupina (*Crupina vulgaris*) achenes. *Weed Science*. 34 : 237-241.
12. EGLEY, G.H. 1986. Stimulation of weed seed germination in soil. *Reviews of Weed Science* 2: 67-89.
13. FAAN, A. And WEBER,E. 1989. Estudio del comportamiento germinativo del yuyo colorado (*Amarantus quitensis* H.B.K.). *Revista de la Asociación argentina para el control de malezas*. Vol. 17.
14. FENNER, M. 1992. The ecology of regeneration in plant communities. Wallingford, U.K. C.A.B. International. 61- 87.
15. GALVEZ, J.R.; AGAR, A. 1971. Estudio de la digestión de la sustancia seca de la alfalfa deshidratada en el rumen mediante la aplicación de la técnica de las bolsas de nylon. INIA. Uruguay. *Anales*,1971. Serie Producción Animal N°1: 37-43.
16. GODIÑO, M. 1995. Germinación de semillas de *Coleostepus myconis* sometidas a procesos de ensilaje y fermentación ruminal.
17. HACKER, J.B.; MINSON, J.D. 1981. The digestibility of plant parts. *Herbage Abstracts* 51 (9): 459- 476.
18. HARPER, J.L. 1977. *Population biology of plants*. London, Academic Press. p. 892.
19. HARMON, G.; KEIM, F. 1934. The porcentage and viability of weed seeds recovered in the feces of farm animals and their longevity when buried in manure. *Journal of american society of agronomy*: 26 : 763-767.

20. HUNGATE, R.E. 1966. The rumen and its microbes.: 43 – 78.
21. KISSMANN, K. G.; GROTH, D. 1992. *Chrysanthemum myconis* L. In Plantas infestantes e nocivas; plantas dicotiledoneas por ordem alfabéticas de famílias: Acanthaceae a Fabaceae. Sao Paulo, Bra., BASF Brasileira.: 217- 220.
22. KOLLER ,D. 1972. Enviromental control of seed germination. In KOZLOWSKI , T.T. de . Seed biology. New York. Academic Press.: 2 – 93.
23. LABOURIAU, L.G. 1983. A germinação das sementes. Washington, D.C, OEA. 174 p.
24. MAGUIRE, J. D. 1962. Speed of gernination- Aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. Crop Sci. 2: 176 p.
25. A.M. POLJAKOFF-MAYBER, 1989. The germination of seeds. 4ª Ed. MAYER. Oxford, U.K., Pergamon Press. 270 p.
26. MEHEREZ, A.Z.; ORSKOV, E.R. 1976. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. Cambridge. Journal of animal science, 88 (3): 643- 649.
27. MONSON, W.G.; UTLEY, P.R. 1974. Effects of diet of fistulated steer on in "vitro" and in "vivo" nylon bag digestibility of forage- corn mixtures. Agronomy journal, 66 (3): 358-360.
28. MOREIRA, N.; NAKAGAWA, J. 1983. Sementes. Ciência, Tecnologia e produção. Campinas, Brasil, Fundação Cargill.: 33-243.
29. PHILLIS, J.W. 1976. Veterinary physiology. Paris, Lavoisier: 78 – 123.
30. RIOS, A. 1987. Estudio de factores do ambiente na germinação de frutos polimorficos de *Bridens pilosa* L. Tese Mg. Sc. Viçosa, Bra. , Universidade Federal dee Viçosa. 260 p.

31. RIOS, A.; GIMENEZ, A. 1993. Margarita de piria. 1. Aspectos básicos para su control. Uruguay, INIA Boletín de divulgación nº 35 52 p.
32. ROBBINS, W.; CRAFTS, A.; RAYNOR, R. 1969. Destrucción de malas hierbas. 2ª Ed. Traducida por De La Loma, L. México, Unión Tipográfica Editorial hispano Americana. 531 p.
33. ROTS, C.A.; MUCK, R.E. 1994. Forrage evaluation and utilization: 828- 862.
34. RUSSELL, J.B.; HESPELL, R.B. 1981. Microbial Rumen Fermentation. J. Dairy Sci. 64: 1153-11159.
35. SUTTON, J.D.; OLDHAM, J.D. 1977. Germination off seeds (*Cammon cuprina*) Proc. Nutr. Soc. 36: 203-209.
36. TAKABAYASHI, M.; KUBOTA, T.; ABE, H. 1979. Dissemination of weeds seed through cow feces. JARJA9 13 (3): 204-207.
37. THOMPSON, K.; GRIME, J.P. 1983. Comparative study of germination resposes to diurnally-fluctuating temperatures. Aspects of Applied Ecology 20: 141-156.
38. UDEN, P.; VAN SOEST, P.J. 1984. Investigations of the in situ bag technique and a comparison of the fermentation in heifers, sheep, ponies and rabbits. Journal of animal science, 58 (1): 213-221.
39. WEAKLEY, D.C.; STERN, M.D.; SATTER, L.D. 1983. Factors affecting disappearance of feedstuffs from bags suspended in the rumen. Journal of Animal Science. 56 (2): 493-507.
40. WOODWARD, T.E. 1941. The viability of seeds as affected by the siloing process. Jour. Dairy Science, 23: 267-271.

41. WILSON, J.R. 1982. Germination and seedling development of Fringed sagebrush (*Artemisia frigida*). *Weed science* 30: 102-105.

42. WILSON, R.G.; McCARTY, M.K. 1984. Germination, seedling and rosette development of Flodman thistle (*Cirsium flodmanii*). *Weed Science* 32: 768-773.