

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CÂMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DO CO<sub>2</sub> SOBRE A QUALIDADE NUTRICIONAL, FERRUGEM  
E FUSARIOSE DA ALFAFA**

**MICHELLI DE SOUZA DOS SANTOS**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU-SP  
Fevereiro-2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CÂMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DO CO<sub>2</sub> SOBRE A QUALIDADE NUTRICIONAL, FERRUGEM  
E FUSARIOSE DA ALFAFA**

**MICHELLI DE SOUZA DOS SANTOS**

Orientadora: Dra. Raquel Ghini

Co-Orientador: Edson Luiz Furtado

Tese apresentada à Faculdade de Ciências  
Agronômicas da UNESP – Câmpus de  
Botucatu, para obtenção do título de Doutor  
em Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU-SP

Fevereiro-2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO- BOTUCATU (SP)

Santos, Michelli de Souza dos, 1983 -  
S237e Efeito do co2 sobre a qualidade nutricional, ferrugem e fusariose da alfafa / Michelli de Souza dos Santos. - Botucatu : [s.n.], 2015  
viii, 55 f. : ils. color., grafs., tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2015  
Orientador: Raquel Ghini  
Inclui bibliografia

1. Fusário. 2. Alfafa - Doenças e pragas. 3. Ferrugem. 4. Mudanças climáticas. I. Ghini, Raquel. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CAMPUS DE BOTUCATU  
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "EFEITO DO CO<sub>2</sub> SOBRE A QUALIDADE NUTRICIONAL, FERRUGEM  
E FUSARIOSE DA ALFAFA"

ALUNA: MICHELLI DE SOUZA DOS SANTOS

ORIENTADORA: PROFA. DRA. RAQUEL GHINI  
COORIENTADOR: PROF. DR. EDSON LUIZ FURTADO

Aprovado pela Comissão Examinadora



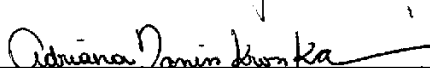
---

PROF. DR. EDSON LUIZ FURTADO



---

PROF. DR. DARTANHÁ JOSÉ SOARES



---

PROFA. DRA. ADRIANA ZANIN KRONKA



---

PROF. DR. ADIBE LUIZ ABDALLA



---

PROF. DR. MIGUEL ANGEL DITA RODRIGUEZ

Data da Realização: 13 de fevereiro 2015.

**DEDICATÓRIA**

Dedico esse trabalho aos meus pais e irmão que mesmo a dois mil km de distância estiveram presente para que esse trabalho tivesse um bom final.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela conquista.

À Dra. Raquel Ghini pelos ensinamentos, contribuição e paciência.

Ao Professor Édson Luís Furtado pelo apoio e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Adibe Luís Abdala pela contribuição na condução das análises bromatológica.

Ao Dr. Harakava pela identificação dos patógenos.

À UNESP/FCA, pela chance da realização do curso.

À Embrapa Meio Ambiente pela infraestrutura na condução dos ensaios.

À CAPES pela concessão de bolsa de estudo.

Aos professores do Programa de Proteção de Plantas, pelo aprendizado nas disciplinas, em especial aos Profs. Dr. Antônio Carlos Maringoni, Dra. Renate Krause Sakate pela gentileza durante o curso.

Aos colegas da Pós-Graduação e do Laboratório de Microbiologia Ambiental da Embrapa Meio Ambiente, em especial,

Lucivâne, Elaine, Érika, Wallace, Zayame, Maria de Jesus, Vanessa, Suiki, Cassiano, Dalton, Daniel, Larissa, Lucio, Beterraba, Laura, Figura e Mauricio pelo convívio, amizade e incentivos em todos os momentos.

Aos técnicos do Laboratório de Microbiologia Ambiental Roseli, Márcia, Ana Maria e Elke e dos Campos Experimentais Henrique, Rafaela e Antônio, pela colaboração na condução dos experimentos.

Aos amigos que sempre me apoiaram.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

LISTAS DE FIGURAS.....	VII
LISTAS DE TABELAS.....	VIII
1 RESUMO.....	1
2 SUMMARY.....	3
3 INTRODUÇÃO.....	5
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	8
4.1. Mudança climática e doenças de plantas.....	8
4.2. Dióxido de carbono e doenças de plantas.....	10
4.3. Alfafa.....	11
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
5.1. Instalação do experimento.....	17
5.2. Tratamentos.....	19
5.3. Adubação.....	21
5.4. Inoculação das sementes.....	21
5.5. Plantio.....	22
5.6. Avaliações.....	22
5.6.1. Altura das plantas.....	22
5.6.2. Relação entre a parte aérea e raízes.....	23
5.6.3. Número de flores.....	23
5.6.4. Composição bromatológica.....	23
5.6.5. Produção de gases.....	24
5.6.6. Inoculação das plantas e avaliação da ferrugem.....	25
5.6.7. Inoculação de plantas e avaliação da fusariose.....	27
5.7. Análise dos dados.....	27
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
6.1. Impacto do aumento da concentração de CO <sub>2</sub> sobre o desenvolvimento das plantas de alfafa.....	28
6.2. Efeito do CO <sub>2</sub> na ferrugem da alfafa.....	33
6.3. Efeito do CO <sub>2</sub> na fusariose da alfafa.....	38
6.4. Efeito do CO <sub>2</sub> na composição bromatológica e produção de gases da alfafa.....	40
7. CONCLUSÕES.....	44

8. REFERÊNCIAS..... 45



## LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 – Estufa de topo aberto utilizada durante os ensaios.....	18
Figura 2 – Estufa de topo aberto. A – Canalização por onde o CO <sub>2</sub> é injetado dentro da parcela. B - Infra Red Gás Analyzer, IRGA.....	19
Figura 3 – Tratamentos realizados. A - Testemunha sem estufa de topo aberto e sem injeção de CO <sub>2</sub> (T). B – Estufa de topo aberto sem injeção de CO <sub>2</sub> (E). C – Estufa de topo aberto com injeção de CO <sub>2</sub> (CO <sub>2</sub> ).....	20
Figura 4 – Plantio em linhas da alfafa. ....	22
Figura 5- Plantas de alfafa após a inoculação da ferrugem. ....	26
Figura 6 - Escala diagramática para estimativa da severidade da ferrugem.....	26
Figura 7 – Matéria seca (MS) da parte aérea a 60°C das estufas de topo aberto com injeção de CO <sub>2</sub> e sem injeção.....	31
Figura 8 - Quantidade de flores produzidas nas estufas de topo aberto com injeção de CO <sub>2</sub> e sem injeção. ....	32

## LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 - Concentração do dióxido de carbono do ar, nos cinco ensaios realizados para a avaliação do efeito do aumento da concentração do CO <sub>2</sub> sobre a ferrugem da alfafa, fusariose e o crescimento da alfafa.....	20
Tabela 2 - Recomendação de adubação fosfatada e potássica para formação e manutenção (cobertura) da cultura da alfafa, na região Sudeste do Brasil.....	21
Tabela 3 - Médias das alturas das plantas de alfafa após 80 dias de cultivo em estufas de topo aberto com injeção de CO <sub>2</sub> e sem injeção.....	29
Tabela 4 - Biomassa das raízes (R) e da parte aérea (PA) de plantas de alfafa, aos 30 e 60 dias de cultivo em estufas de topo aberto com injeção de CO <sub>2</sub> e sem injeção.....	30
Tabela 5 – Relação do comprimento da haste (h) com o comprimento da raiz (r), aos 30 e 60 dias de cultivo nas estufas de topo aberto com injeção de CO <sub>2</sub> e sem injeção.....	33
Tabela 6 - Severidade (% de área foliar infectada) da ferrugem e a desfolha (%) em estufas de topo aberto com e sem injeção de CO <sub>2</sub> .....	34
Tabela 7 – Número médio de pústulas por folha em estufas de topo aberto com injeção de CO <sub>2</sub> e sem injeção.....	36
Tabela 8 – Número médio de esporos por pústula em estufas de topo aberto com injeção de CO <sub>2</sub> e sem injeção.....	37
Tabela 9 – Severidade (% de folhas afetadas) da fusariose da alfafa em estufas de topo aberto com e sem injeção de CO <sub>2</sub> .....	38
Tabela 10 – Incidência da fusariose da alfafa em estufas de topo aberto com injeção de CO <sub>2</sub> e sem injeção.....	39
Tabela 11 - Composição bromatológica das alfafas com injeção de dióxido de carbono e sem injeção.....	41
Tabela 12 – Degradabilidade da matéria orgânica e fibra em detergente neutro em estufas de topo aberto com injeção de dióxido de carbono e sem injeção.....	42
Tabela 13 - Produção de gases e metano das alfafas em estufas de topo aberto com injeção de dióxido de carbono e sem injeção.....	43

## 1 RESUMO

A concentração atmosférica de CO<sub>2</sub>, principal gás responsável pela intensificação do efeito estufa, vem aumentando significativamente nas últimas décadas. A alfafa é uma importante forrageira que pode ter suas características alteradas pelo aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, favorecendo a ocorrência de doenças e intensificando a emissão de gases de efeito estufa após sua ingestão por animais. Diante desse cenário, o objetivo desse trabalho foi verificar o impacto do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> do ar em doenças da alfafa, crescimento das plantas e composição bromatológica. Os ensaios foram realizados em campo, com semeadura direta de sementes de alfafa da cultivar crioula em estufas de topo aberto (OTC), adotando o delineamento experimental em blocos casualizados, com três repetições. Os tratamentos foram: testemunha sem OTC, com a concentração de 390  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub>; OTC sem injeção de CO<sub>2</sub>, com 400  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub>; e OTC com injeção de CO<sub>2</sub> até atingir 500  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub>. Na parte aérea das plantas, foram realizadas análises para determinar a matéria seca, matéria mineral, matéria orgânica, nitrogênio em fibra detergente neutro (n-FDN), nitrogênio em fibra detergente ácido (n-FDA), proteína bruta e lignina e análise química foliar. Além dessas, foram realizadas medidas da altura das plantas, relação entre o comprimento da haste e da raiz, peso da biomassa da raiz e da parte aérea e a contagem das inflorescências. Uma doença foi avaliada nos dois primeiros ensaios: a ferrugem, causada por *Uromyces striatus*, e a segunda foi avaliada nos dois últimos ensaios: murcha de fusário, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis*. A severidade das doenças foi avaliada por meio de notas, semanalmente, durante 28 dias. A

desfolha ocasionada pela ferrugem foi avaliada a partir da porcentagem de nós sem a presença de folhas. A altura das hastes da alfafa, a relação entre o comprimento da haste e o comprimento da raiz, biomassa da raiz e parte aérea foram maiores no tratamento com injeção de CO<sub>2</sub>. Para a matéria seca, matéria mineral, matéria orgânica, n-FDN, n-FDA, proteína bruta e lignina não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos. A severidade da ferrugem foi maior no tratamento com injeção de CO<sub>2</sub> e a da mancha de fusário foi menor. Os resultados demonstram que o aumento da concentração de dióxido de carbono pode aumentar algumas características de desenvolvimento da planta de alfafa e a aumentar a severidade da ferrugem da alfafa uma doença da parte aérea e diminuir a severidade da murcha de fusário uma doença da parte radicular.

Palavras chave: ferrugem, murcha de fusário, dióxido de carbono e mudança climática.

EFFECT OF CO<sub>2</sub> ON NUTRITION QUALITY, AND RUST FUSARIOSE OF ALFALFA. Botucatu, 2015. 55p

Tese (Doutorado em Agronomia/ Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: MICHELLI DE SOUZA DOS SANTOS

Adviser: RAQUEL GHINI

Co-adviser: ÈDSON LUIS FURTADO

## 2 SUMMARY

The atmospheric CO<sub>2</sub> concentration, the main gas responsible for intensifying the greenhouse effect, has increased significantly in recent decades. Alfalfa is important forage that can have its characteristics altered by increased atmospheric CO<sub>2</sub> concentration, facilitating the occurrence of diseases and enhancing the emission of greenhouse gases after its ingestion by animals. Given this scenario, the objective of this study was to assess the impact of increased CO<sub>2</sub> concentration in the air on alfalfa diseases, plant growth and chemical composition. Assays were performed in the field with direct seeding of alfalfa seed cultivar Creole in open top chambers (OTC), adopting the trial randomized block design with three replications. The treatments were: control without OTC, with the concentration of 390  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  of CO<sub>2</sub>; OTC without CO<sub>2</sub> injection with 400  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  of CO<sub>2</sub>; and OTC injected CO<sub>2</sub> with target concentration of 500  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ . In the shoots, analyzes were performed to determine dry matter, ash, organic matter, nitrogen in neutral detergent fiber (NDF-N), nitrogen in acid detergent fiber (ADF-N), crude protein and lignin and foliar analysis. In addition to these measures of plant height, stem length and root weight of biomass of the root and shoot and inflorescence. One disease was evaluated during the second trials: rust, caused by *Uromyces striatus* and one were evaluated during the two last trials: the wilt of fusarium caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis*. The diseases severity was assessed weekly by notes during 28 days. The defoliation caused by rust was evaluated by the percentage of leaves. Height of stems, the relationship between the length of stem and root, biomass of roots and shoots were higher in the treatment with CO<sub>2</sub> injection. Dry matter, ash, organic matter, n- NDF, ADF-n, crude protein and lignin showed no statistical difference between the treatments. The rust severity was greater in treatment with CO<sub>2</sub> injection and the spot was smaller *Fusarium*. The results demonstrate that the increase in carbon dioxide concentration can increase

some of the alfalfa plant growth characteristics and increasing the severity of rust alfalfa an aerial part of the disease and reduce the severity of Fusarium wilt disease of roots.

Keywords: rust, fusarium wilt, carbon dioxide and climate change

### 3 INTRODUÇÃO

Nas últimas duas décadas, a mudança climática tornou-se um tema cada vez mais preocupante, pois vem ocorrendo um acréscimo na atmosfera da concentração dos gases que intensificam o efeito estufa do planeta. Esse aumento pode provocar mudanças no clima, como o aumento de temperatura, mudança no ciclo de chuvas, entre outros (IPCC, 2013).

A agricultura provavelmente será um dos setores mais atingidos pela mudança do clima, nas diferentes regiões do planeta, apesar dos avanços tecnológicos e das estratégias de manejo (MACHADO e MARENGO, 2006). A América do Sul tem sido identificada, em inúmeros estudos, como uma das regiões no mundo que podem ser fortemente impactadas, caso as atuais projeções de mudança climática se confirmem, em especial na região tropical do continente (IPCC, 2013). A América do Sul é vulnerável às variabilidades e extremos climáticos atuais (por exemplo, enchentes, furacões e secas) e, provavelmente, pode ser atingida pelos extremos climáticos mais frequentes que ameaçam um mundo mais quente (MARENGO et al., 2010). Essa vulnerabilidade pode ser entendida como a extensão dos danos atribuídos à mudança climática sobre algum setor ou sistema de produção e será tão mais intensa quanto maior for a suscetibilidade dos mesmos e a sua habilidade de absorver ou se adaptar àquelas mudanças. Os sistemas agrícolas podem ser comprometidos pelo tempo meteorológico e o clima de diferentes formas, por exemplo, na

produção e produtividade das culturas, no comportamento das operações do campo e na ocorrência de pragas e doenças (MACHADO e MARENGO, 2006).

Para as doenças de plantas, que se caracterizam por serem sistemas biológicos complexos, as mudanças climáticas apresentam uma grande incerteza nos modelos atuais. Por exemplo, a resposta das comunidades microbianas do solo à elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico pode influenciar o ecossistema por meio dos impactos sobre o sequestro de carbono, a ciclagem de nutrientes, ou modificar positivamente e/ou negativamente as relações com as plantas (CHAPIN et al., 2010).

As modificações na composição atmosférica podem diretamente afetar a fisiologia das plantas (WITTIG et al., 2009) e, conseqüentemente, o ciclo de doenças. O incremento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico pode aumentar a taxa de fotossíntese, a qual é uma resposta fisiológica conhecida há mais de um século (BROWN e ESCOMBE, 1902).

Segundo o IPCC (2013), a forçante radiativa do sistema climático tem continuado a aumentar durante a última década, como o seu maior contribuinte, a concentração atmosférica de CO<sub>2</sub>. As concentrações atmosféricas de gases de efeito estufa estão em níveis sem precedentes há pelo menos 800 mil anos. As concentrações de CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e N<sub>2</sub>O apresentaram amplos acréscimos desde 1750 (40%, 150% e 20%, respectivamente). As concentrações de dióxido de carbono estão aumentando em ritmo mais rápido ( $2,0 \pm 0,1$  ppm ano<sup>-1</sup>) de 2002 a 2011.

Desse modo, além de intensificar o efeito estufa e provocar alterações climáticas, o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> pode influenciar nas relações patógeno-hospedeiro. Com isso, o estudo dessas alterações com o objetivo de prever os efeitos do CO<sub>2</sub> nas doenças de plantas e gerar medidas preventivas de adaptação é imprescindível a fim de evitar danos maiores no futuro.

O patossistema deve ser estudado de forma ampla para permitir a avaliação dos mais diversos efeitos do aumento da concentração de CO<sub>2</sub>. Um dos benefícios gerados para as plantas, de modo geral, é um incremento no desenvolvimento, apesar de que podem ocorrer diferenças entre as diversas espécies. As mudanças climáticas podem ocasionar efeitos diretos e indiretos, tanto sobre os patógenos quanto sobre as plantas hospedeiras e a interação de ambos, pois o ambiente influencia todas as fases de desenvolvimento, tanto do patógeno, quanto da planta hospedeira, assim como da doença. A avaliação do efeito das mudanças climáticas sobre o desenvolvimento de doenças em



plantas é de grande interesse para a agricultura, pois permite elaborar estratégias para minimizar possíveis danos (GHINI, 2005).

Assim como outros patossistemas, as doenças da alfafa (*Medicago sativa*) podem aumentar, diminuir ou não sofrer alterações perante as mudanças do clima. As plantas do tipo C4, que é o caso da alfafa, respondem de maneira diferente ao elevado teor de CO<sub>2</sub>. De acordo com Poorter (1993), o crescimento de plantas do tipo C4 pode ser aumentado em 22% em altas concentrações de CO<sub>2</sub> do ar, enquanto que as do tipo C3 aumentam em 41%. Desse modo, embora com menor intensidade, as plantas C4 respondem ao aumento de CO<sub>2</sub>, alterando as características das plantas o que, conseqüentemente, pode alterar o ciclo das doenças que atacam essa cultura.

Além disso, a alfafa crescida em ambiente enriquecido com CO<sub>2</sub> depois de consumida por animais, pode ou não ter as emissões de metano aumentadas, e isso seria outro fato relevante aos estudos das medidas de mitigação das mudanças climáticas, já que o metano (CH<sub>4</sub>) é um dos gases que intensificam o efeito estufa.

O CH<sub>4</sub> é o gás mais importante quando considerado o sistema pecuário. Pode ser determinado durante o processo de fermentação entérica e das fezes dos animais. Devido os bovinos serem apontados como grandes produtores de metano, esse gás vem se tornando uma preocupação (SANTOS e NOGUEIRA, 2012).

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi verificar o impacto do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> do ar sobre as doenças, o crescimento e a composição bromatológica de plantas de alfafa. Os resultados permitirão avaliar o comportamento da cultura e a emissão de gases de efeito estufa após a ingestão por animais, diante das alterações do clima, e elaborar medidas de adaptação e mitigação.

## **4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **4.1. Mudança climática e doenças de plantas**

O quinto relatório do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC, 2013) foi dividido em três partes: base física; impactos, adaptação e vulnerabilidade; e mitigação das mudanças climáticas. A partir desse relatório, é possível verificar as mudanças que vêm ocorrendo no planeta, suas causas e projeções e, assim, elaborar métodos de simulação dessas mudanças e criar medidas de adaptação e mitigação ao cenário futuro.

A influência humana sobre o clima do planeta é clara e as emissões antrópicas de gases de efeito estufa recentes são as maiores da história. As recentes mudanças climáticas tiveram impactos generalizados sobre os sistemas humanos e naturais. O aquecimento do clima é evidente e, desde a década de 1950, várias das mudanças analisadas são sem precedentes ao longo das décadas. A atmosfera e o oceano têm aquecido, as quantidades de neve e gelo têm diminuído e o nível do mar tem aumentado. O período de 1983 a 2012 foi, muito provavelmente, o mais quente dos últimos 800 anos no Hemisfério Norte e, possivelmente, o mais quente dos 30 anos dos últimos 1.400 anos (IPCC, 2013).

O aumento da temperatura pode ocasionar sérios problemas na agricultura, pois essa é fortemente influenciada pelas mudanças no clima. Por exemplo, o

aumento de temperatura pode elevar a quantidade de insetos transmissores de doenças de plantas, principalmente em regiões tropicais e equatoriais (HENCE et al., 2007).

Segundo o IPCC (2013), o acréscimo da temperatura ameaça o cultivo de muitas culturas e pode agravar o problema da fome em partes mais vulneráveis do planeta. As comunidades pobres da África e da Ásia serão as mais comprometidas, no entanto, os grandes produtores agrícolas, como por exemplo, o Brasil, também notarão os efeitos, possivelmente na próxima década.

Dentre todos os diferentes setores econômicos, a agricultura apresenta a maior dependência das condições climáticas, principalmente, com relação ao acréscimo nas temperaturas das áreas tropicais e subtropicais, que incluem a maioria dos países em desenvolvimento.

As grandes mudanças nos padrões de precipitação e temperatura podem ameaçar as culturas agrícolas e aumentar a vulnerabilidade das pessoas que dependem da agricultura para o seu sustento. As mudanças climáticas alteram os mercados de alimentos, o que representa riscos à população em geral com relação à oferta de alimentos. As ameaças podem ser diminuídas por meio da ampliação da competência de adequação dos agricultores, assim como aumentar a resiliência e eficiência na utilização de recursos em sistemas de produção agrícola (LIPPER et al., 2014).

As mudanças climáticas poderão criar ambientes mais chuvosos ou secos em várias regiões provocando anormalidades na distribuição de chuvas. A intensificação de chuvas em certas regiões pode ampliar o potencial de erosão, causar enchentes e assoreamento de rios. Também pode ocorrer o risco de intrusão de sais nos estuários e aquíferos, sobretudo em áreas costeiras como consequência do aumento do nível do mar (SIQUEIRA et al., 2001).

As doenças de plantas causam cerca de 14% de perdas da agricultura (AGRIOS, 2005) e essas doenças são influenciadas pelo ambiente, que pode atuar no crescimento e na suscetibilidade da planta hospedeira, na multiplicação, disseminação, sobrevivência do patógeno, igualmente como na interação da planta hospedeira e o patógeno. Por isso, as mudanças climáticas compõem uma grave ameaça à agricultura, uma vez que podem causar expressivas alterações na ocorrência e severidade de doenças de plantas (GHINI, 2005). Os agentes fitopatogênicos compõem um grupo essencial de indicadores biológicos que precisa ser conceituado com relação aos efeitos das mudanças climáticas (GARRETT et al., 2009).

A severidade da doença pode ser influenciada por alterações na resistência do hospedeiro, como o adiamento da penetração do patógeno, e por uma maior disponibilidade de sítios de infecção, que promove um microclima adequado para seu desenvolvimento (CHAKRABORTY et al., 2008). Segundo Sturrock et al. (2011), os patógenos podem ser beneficiados pelas mudanças climáticas, pois têm maior capacidade de se adaptar a novas condições climáticas do que seus hospedeiros de vida longa e também deverão migrar para locais com clima mais apropriado a sua sobrevivência e reprodução em um tempo mais rápido que seus hospedeiros.

Além da temperatura e a precipitação, o aumento da concentração de dióxido de carbono atmosférico também pode interferir no ciclo das doenças de plantas. Manning e Tiedemann (1995) verificaram que há uma tendência ao aumento de doenças de plantas com a elevação da concentração do CO<sub>2</sub>, devido ao aumento na produção de biomassa das plantas, o que significa maior quantidade de tecido a ser infectado pelos patógenos. O aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico pode gerar alterações no metabolismo, crescimento e processos fisiológicos das plantas, e, assim, ocasionar efeitos na fisiologia das plantas e pode alterar o cenário atual de algumas fitopatologias e interferir nas relações patógeno-hospedeiro (GARRETT et al., 2006).

Os sistemas agrícolas são diretamente dependentes da proteção de plantas. Assim, o estudo dos efeitos das mudanças climáticas em doenças de plantas, com o objetivo de diminuir as perdas de produção e de qualidade, ajuda na seleção de estratégias para contornar os problemas (CHAKRABORTY et al., 2000).

#### **4.2. Dióxido de carbono e doenças de plantas**

O aumento do uso de combustíveis fósseis, assim como a utilização não sustentável da Terra, por meio da diminuição de florestas nativas, aumentou as emissões de gases com efeito de estufa, colaborando decididamente para o acréscimo da temperatura na Terra. Neste cenário, dois fatores ambientais estão diretamente relacionados com a fisiologia da produção vegetal. O primeiro é o aumento da pressão parcial de dióxido de carbono, o que atinge diretamente a eficiência fotossintética e metabólica. O outro é o acréscimo de temperatura que tem efeito em todos os processos fisiológicos e metabólicos catalisados por enzimas, sobretudo a fotossíntese e a respiração (CARVALHO, SILVA e BEZERRA, 2014).

As mudanças ocorridas pelo aumento do CO<sub>2</sub> provocam variações no metabolismo, crescimento e ações fisiológicas das plantas. Essas variações geram efeitos benéficos como aumento da biomassa e densidade da copa, que resulta em maior área para desenvolvimento do patógeno e limitação na disponibilidade de nutriente e água. A mudança na estrutura da parte aérea da planta influencia os componentes epidemiológicos das doenças por alteração do microclima (GHINI, 2005).

O aumento da concentração de dióxido de carbono pode ter efeito nas doenças de planta, atuando sobre o patógeno, e ou sobre hospedeiro e no ciclo das doenças, como em estudo realizado por McElrone et al. (2010). Os autores mostraram que a incidência e severidade da cercosporiose em *Liquidambar styraciflua* e *Cercis canadensis* aumentaram com o acréscimo da concentração de CO<sub>2</sub>. Segundo Hibberd, Whitbread e Farrar (1996), os fitopatógenos *Erysiphe graminis* e *Colletotrichum gloeosporioides*, quando submetidos à elevada concentração de dióxido de carbono, têm a severidade da doença diminuída e essa redução pode ser devido ao atraso no desenvolvimento inicial do patógeno e diminuição da penetração no hospedeiro.

O acréscimo na biomassa vegetal e a densidade do dossel derivada dos altos níveis de CO<sub>2</sub> foram relacionados a severidades mais elevadas de algumas doenças, especialmente aquelas causadas por patógenos necrotróficos. Reduções na abertura dos estômatos também estão associadas com menores taxas de infecção em algumas doenças. O aumento dos resíduos das culturas pode resultar em aumento das taxas de sobrevivência do patógeno, ou a acelerada maturação e senescência podem promover o desenvolvimento de patógenos necrotróficos (EASTBURN, MCELDRONE e BILGIN, 2011).

Os diversos estudos realizados mostram que as doenças em elevada concentração de CO<sub>2</sub> se comportam de maneira diferente em cada patossistema.

### **4.3. Alfafa**

A alfafa (*Medicago sativa*) é uma leguminosa perene que pertence à família Leguminosae, subfamília Papilionoideae, originária da Ásia Menor e do Sul do Cáucaso. A planta apresenta uma enorme variedade de ecotipos e se sobressai pela elevada produtividade e alto valor nutritivo. É a forragem que oferece mais volume de alimento e consequentemente é a mais indicada para vacas de grande produtividade. O cultivo é criterioso, principalmente em regiões de clima subtropical e tropical, nos quais as pragas e

doenças podem provocar danos no cultivo, causando perda no rendimento e na qualidade da forragem (VIANA et al., 2004).

A alfafa, primeira espécie forrageira a ser domesticada, é uma cultura importante na alimentação de animais. Entre as demais espécies de leguminosas forrageiras, a cultura se sobressai devido a sua facilidade de adaptação aos mais diferentes e variados habitats, por possuir uma composição química que apresenta grande aceitação pelo animal e que permite inúmeras maneiras de utilização (PEREIRA et al., 2003).

Os países produtores de alfafa, como os EUA, Canadá, e Argentina, possuem várias cultivares adaptadas aos diferentes ambientes, obtidas a partir do melhoramento genético e por métodos de seleção. O uso de cultivares adaptadas permite aumentar a persistência, o rendimento e a qualidade da forrageira, e diminuir ou evitar o controle químico de pragas e doenças (ROSSANIGO e MENEGHETTI, 1991). A área de plantio de alfafa no Brasil é de aproximadamente 26 mil hectares e a cultura vem crescendo no País, devido, principalmente, ao aumento dos setores integrados com a implantação de sistemas intensivos de produção de bovinos de corte e leite (RASSINI et al., 2007). Com o aumento da produção dessa forrageira no Brasil, ocorre a necessidade de seleção de cultivares mais tolerantes às condições edafoclimáticas brasileiras, de tal forma que permita uma maior produção e diminuição de custos (FERREIRA et al., 2004).

A alfafa, por ser uma planta forrageira com potencial para altos rendimentos (20 t MS/ha/ano) e de qualidade superior, se comparada a outras fontes de forragens habitualmente utilizadas na pecuária do Brasil, como o milho, a cana-de-açúcar e o capim-elefante. A cultura tem se expandido para o Sudeste, em virtude da crescente implantação de sistemas intensivos de produção de leite na região, onde se encontram as maiores bacias leiteiras do País (VILELA, 1992). A baixa produtividade e perenidade dos alfafais nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná são, principalmente, devido ao deficiente manejo dos cortes, intensa competição por invasoras, ataques de insetos e doenças e manejo incorreto da adubação (NUERNBERG, MILAN e SILVEIRA, 1990).

A alfafa é uma leguminosa forrageira perene interessante, uma vez que é rica em proteína, cálcio, fósforo e vitaminas A e C (POMPEU et al., 2003). Para que o potencial forrageiro da alfafa se expresse, é preciso que a cultivar usada seja adaptada às condições locais de solo e clima. As cultivares Crioula e Cibola apresentam uma boa opção para o cultivo na Zona da Mata de Minas Gerais (BOTREL e ALVIM, 1997). As condições edáficas, principalmente quanto às características químicas, são os mais

importantes fatores que interferem na produção da alfafa no País, principalmente pela baixa a média fertilidade da maior parte dos solos. Nos outros países produtores da alfafa, o pH está entre 6,5 e 7,5. Para as cultivares mais adaptadas às condições brasileiras, a correção da acidez dos solos é fundamentada na saturação por bases ao nível de 80%, o que equivale ao pH entre 6,0 a 6,5. O nitrogênio para a alfafa pode ser fixado por meio da ação simbiótica de bactérias aeróbicas da espécie *Sinorhizobium meliloti* (RASSINI, FERREIRA e MOREIRA, 2006). O potencial de fixação do nitrogênio atmosférico (N<sub>2</sub>) a partir da agregação simbiótica *Medicago sativa* e *S. meliloti* é de mais ou menos 200 kg de N ha/ano. Essa relação fornece a quantidade de nitrogênio necessária para que a planta tenha um bom desenvolvimento, sendo desnecessária a aplicação de adubos nitrogenados (GOMES et al., 2002).

A alfafa tem ramos herbáceos eretos e apresenta 60 a 90 centímetros de altura. Não é tolerante aos solos ácidos, pois altos teores de alumínio e manganês no solo reduzem a disponibilidade de elementos essenciais às plantas. O desenvolvimento da bactéria *S. meliloti* também é prejudicada por solos ácidos. Assim, é necessário que se realize calagem em solos muito ácidos para que ocorra um bom desenvolvimento da cultura (MOREIRA e FAGERIA, 2010). As folhas são compostas de três folíolos ovais, de cor verde-clara a escura e as flores são pequenas de cor amarela ou violeta. Os frutos são em forma de vagens espirais e possuem de duas a cinco sementes. As plantas se desenvolvem em solos profundos e com boa fertilidade especialmente em fósforo, cálcio e magnésio. O sistema radicular pode alcançar de dois a cinco metros de profundidade no solo. Dependendo do manejo da cultura a sua produção pode ultrapassar os dez anos. A propagação é realizada por meio de sementes e, na região Sul do Brasil, a época mais indicada para o plantio é no outono. Entre as variedades mais habituadas ao clima mais quentes, estão a Crioula e Pionner (CROCHEMORE, 1998).

Em ambientes irrigados, a alfafa apresenta uma boa produção de forragem durante todo o ano, esse ambiente é uma boa solução para o cultivo da alfafa, sobretudo na época do inverno. As cultivares Crioula importada, P30, Crioula Honda, Crioula e Crioula CRA podem ser indicadas para o cultivo na região central do Estado de Goiás (HEINEMANN et al., 2006).

O plantio da alfafa pode ocorrer tanto ao nível do mar, quanto em altas altitudes. A germinação da alfafa ocorre a partir de temperaturas de 2 a 3°C, e ocorre mais rapidamente com a elevação da temperatura, sendo a temperatura ideal para o seu

desenvolvimento entre 20° a 30°C. No entanto, as temperaturas entre 15° e 20°C beneficiam o desenvolvimento da planta na fase de estabelecimento da cultura. No Brasil, em regiões produtoras, como a Sudeste, temperaturas altas diminuem o período entre cortes. O intervalo de corte é de 35 a 42 dias nas estações de outono-inverno e de 28 a 32 dias nas estações de primavera-verão (QUEIROZ, GOMIDE e MARIA, 2000).

A cultura da alfafa exige por volta de 800 a 1600 mm de precipitação, dependendo do clima e da duração do período vegetativo, para que produza a contento. Em comparação com outras culturas, apresenta um alto consumo de água, assim para uma boa produção da cultura ela deve ser conduzida sob irrigação (RASSINI, 2002).

As doenças foliares são um problema sério para a alfafa em todas as áreas onde alfafa é cultivada. O desfolhamento ocasionado por patógenos foliares varia de 3 a 71% dependendo da época do ano, ambiente e local. Essas doenças ainda podem reduzir a qualidade das sementes. As principais doenças foliares são a mancha de *Phoma* (*Phoma medicaginis*), mancha-comum (*Pseudopeziza medicaginis*), ferrugem (*Uromyces striatus*), mancha de *Leptosphaerulina* (*Leptosphaerulina briosiana*), ponta-preta (*Cercospora medicaginis*), antracnose (*Colletotrichum trifolii*) e mancha de *Stemphylium* (*Stemphylium botryosum*) (IAMAUTI e SALGADO, 1997).

A ferrugem ocasionada pelo fungo *Uromyces striatus* J. Schrot causa grandes perdas na cultura da alfafa. A doença está amplamente distribuída pelo mundo e o fungo causador pode afetar outras culturas anuais, como *Medicago trunculata* (SKINNER e STUTEVILLE 1995; RUBIALES e MORAL, 2004).

A ferrugem apresenta ampla distribuição e ocorrência na alfafa, em especial nas regiões com temperaturas mais altas e nos períodos mais quentes do ano. Para controlar a doença, deve-se utilizar cultivares resistentes. O melhoramento genético visando à obtenção de cultivares resistentes à ferrugem é o meio mais viável de controle (WEBB e NUTTER Jr, 1997; MADRID et al., 2010). Tratamentos com fungicidas são viáveis em apenas alguns anos e locais. Doenças foliares são difíceis de controlar, assim, uma alternativa é a colheita precoce, para diminuir a perda de folhas e remover o inóculo (NUTTER et al., 2002).

O fungo *U. striatus* J. Schrot pertence ao gênero *Uromyces*, que causa importantes doenças em leguminosas produtoras de grãos e forrageiras (RUBIALES, EMERAN e SILLERO, 2002).



A ferrugem da alfafa é monocíclica (WEBB e NUTTER Jr, 1997). A identificação de espécies do gênero *Uromyces* que atacam leguminosas baseia-se principalmente na morfologia do télio, teliósporos, urédias e urediniósporos. Todavia, em algumas espécies, o télio não está disponível, pois sua ocorrência depende das características do hospedeiro e das condições ambientais. Além disso, espécies causadores de ferrugem muitas vezes são difíceis de identificar, com base somente na morfologia dos urediniósporos. As espécies hospedeiras também são utilizadas para a identificação, no entanto, muitas espécies do patógeno podem infectar a mesma planta hospedeira. As estruturas de infecção, como o tubo germinativo, apressório, vesícula subestomática, hifa primária de infecção, células mães do haustório, hifas secundárias e haustório também podem ser decisivos na identificação da espécie em estudo (EMERAN et al., 2005).

Pozza e Souza (1994) descrevem que os sintomas dessa doença são mais frequentes no verão, sob condições de elevadas temperatura e umidade. Samac (1994) também descreve a ferrugem como uma doença adaptada ao clima quente e úmido. Desse modo, essa doença é mais frequente em regiões de clima tropical causando grandes perdas a qualidade da cultura. Podem ocorrer perdas adicionais no inverno quando as plantas de alfafa estão enfraquecidas pelas epidemias de ferrugem ocasionadas na estação anterior de temperatura elevada (WEBB e NUTTER Jr, 1997).

Essa ferrugem é uma doença foliar que afeta folhas e caules das plantas de alfafa e constitui um dos grupos mais graves, causando grandes prejuízos à cultura (KEMEN et al., 2005). Os sintomas são mais comuns nos folíolos e pecíolos. As lesões são de formato circular e pequenas com a cor marrom-avermelhada comum ao gênero das ferrugens. Os uredósporos do patógeno podem ser encontrados tanto na parte abaxial da folha como na parte adaxial. Caso a ocorrência da doença seja muito severa, a ferrugem pode causar a desfolha das plantas (GOULTER, 1984).

Outra doença que ataca a alfafa é fusariose, também conhecida como murcha de fusário, é causada pelo fungo *F. oxysporum* Schlecht f. sp. *medicaginis* (Weimer) Snyd. e Hans. O fungo persiste no solo por longos períodos, por isso a melhor maneira de controle é a utilização de cultivares resistentes. A doença pode ocasionar reduções na produção de sementes em cultivares suscetíveis, assim a utilização de cultivares resistentes tem sido a única alternativa eficiente de controle (HARTMAN, McCOY e KNOUS, 1984).

A doença foi descrita pela primeira vez em 1927, nos Estados Unidos, e atualmente encontra-se disseminada por todas as regiões produtoras do mundo, sendo sua incidência mais severa em clima quente. Segundo Oliveira, Corsi e Diaz (1998), estudos no estado de São Paulo determinaram que *Fusarium* spp. foram encontradas causando “damping off” em alfafa.

O principal fungo responsável pela murcha de fusarium em alfafa é *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis*. Os fungos *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* raças 1 e 2 e *F. oxysporum* f. sp. *cassia* também foram citados por ocasionar sintomas semelhantes em alfafa. Em meio de cultura, o fungo apresenta micélio cotonoso, com colônias variando em cor, de salmão pálido a violeta, dependendo da temperatura. A temperatura ótima para crescimento está em torno dos 25<sup>0</sup>C. Os microconídios, sempre presentes, são de formato oval a elíptico, hialinos, com tamanho variando de 2,2 a 3,5 µm. Os macroconídios são septados, hialinos e com dimensões de 25-50 x 4-5,5 µm. Os clamidósporos têm diâmetro de 7-11 µm, são intercalares ou terminais no micélio, ocorrendo isolados ou em pares (IAMAUTI e SALGADO, 1997).

A doença se caracteriza pela ocorrência de murcha das brotações que, nos estádios iniciais, podem murchar durante o dia e recuperar a turgescência à noite. Depois de alguns meses, pode ocorrer a morte das plantas. Em alguns casos, estrias vermelho-escuras podem ser observadas, cortando-se longitudinalmente a parte terminal da raiz principal. Essa característica pode diferenciar este patógeno de outros patógenos que causam murchas. Também podem apresentar rápida murcha das hastes acompanhada pelo amarelecimento das folhas (ANTONOPOULOS e ELENA, 2008).

O fungo penetra por meio das raízes ou de ferimentos, invadindo o xilema. O progresso da hifa no tecido é seguido por uma descoloração deste, devido à ação das toxinas produzidas pelo patógeno. Os vasos do xilema ficam obstruídos, ocasionando à murcha e posterior morte da planta. O avanço da doença no campo é vagaroso, mas, após vários anos, acontecem perdas consideráveis no dossel das plantas (IAMAUTI e SALGADO, 1997).

A cultura da alfafa é mais afetada por essa doença nos períodos do ano em que as temperaturas estão mais quentes, assim os países de clima tropical sofrem mais ataques da murcha do fusário. A temperatura favorável à infecção da murcha de fusário encontra-se entre 15 a 35°C, e a temperatura ótima para o desenvolvimento de sintomas varia entre 20 a 26°C (HARTMAN, McCOY e KNOUS, 1984).

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1. Instalação do experimento

Para verificar o efeito do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> do ar sobre o desenvolvimento das doenças e crescimento das plantas de alfafa, foram realizados quatro semeios de alfafa em épocas diferentes. Em cada semeio as sementes eram espalhadas em linhas e ficavam expostas ao dióxido de carbono por aproximadamente 80 dias, após todas as avaliações realizadas todas as plantas foram retiradas da parcela e o solo foi revolvido e realizado uma nova adubação de correção, em seguida era realizada novamente o semeio das sementes da alfafa. Desse modo foram realizados quatro ensaios. Cada ensaio equivale ao período de semeio até a retirada das plantas. O primeiro ensaio foi implantado em setembro de 2012, o segundo em junho de 2013, o terceiro em janeiro de 2014 e o quarto em junho de 2014.

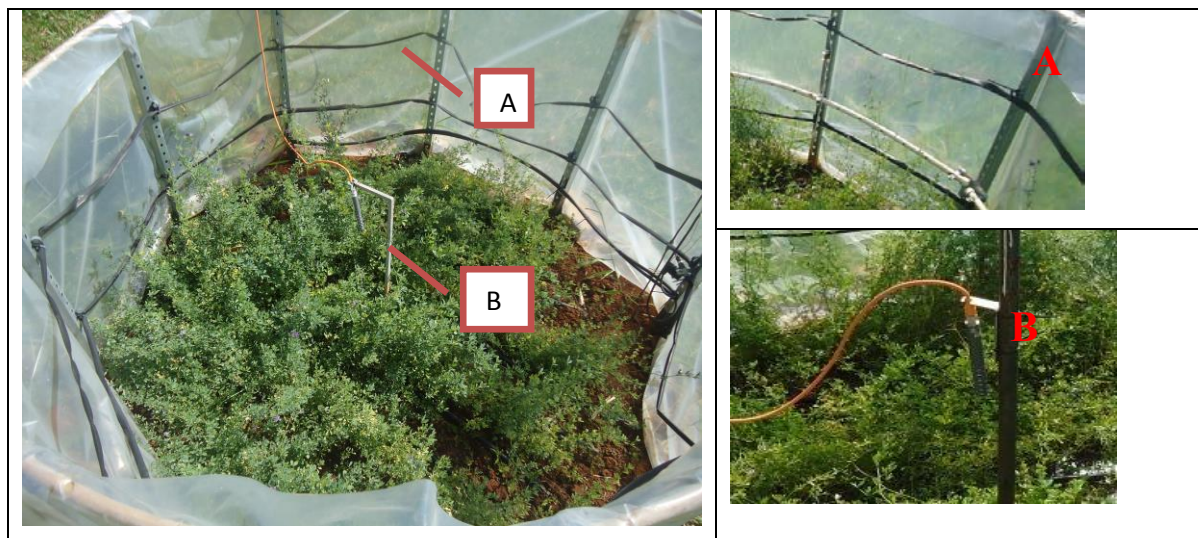
Os ensaios foram conduzidos na Embrapa Meio Ambiente, em Jaguariúna-SP (latitude 22° 37' Sul, longitude 46° Oeste), em condições de campo, em estufas de topo aberto (OTC, "open-top chambers"). Essas OTCs utilizadas no experimento exibem modificações das estufas tradicionais como as descritas por Pritchard e Amthor (2005). Apresentam inovações da instrumentação fundamentada na tecnologia de rede sem fios e alterações na estrutura, como a diminuição da altura das estufas, impedindo o

aumento da temperatura no interior da OTC (TORRE NETO e GHINI, 2011). As OTCs possuem um metro de altura e aproximadamente dois metros de diâmetro são envoltas por um plástico de polietileno transparente e possuem o topo aberto (Figura 1).



**Figura 1** – Estufa de topo aberto utilizada durante os ensaios.

Para atingir a concentração de dióxido de carbono de aproximadamente  $550 \mu\text{mol mol}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$  o dióxido de carbono puro é injetado por uma canalização com furos a cada três centímetros e posicionada na parte lateral da estufa a 30 e 60 cm do solo (Figura 2-A). O monitoramento da concentração do gás foi realizado com um analisador de gás por infravermelho (Infra Red Gas Analyzer, IRGA) (Figura 2-B). As informações foram fornecidas por rede sem fio e controladores de fluxo que regulam a injeção do gás e abertura das válvulas dependendo da concentração do  $\text{CO}_2$  dentro das estufas e da intensidade do vento. Assim, um anemômetro ultrassônico, além de sensor de temperatura e umidade do ar (estação meteorológica marca Vaisala, modelo 520WXT) também fizeram parte da instrumentação do experimento.



**Figura 2** – Estufa de topo aberto. A – Canalização por onde o CO<sub>2</sub> é injetado dentro da parcela. B - Infra Red Gás Analyzer, IRGA.

## 5.2. Tratamentos

Os ensaios foram realizados adotando o delineamento experimental em blocos ao acaso, com três repetições. Os tratamentos foram: testemunha sem OTC (T), OTC sem injeção de CO<sub>2</sub> (E); e OTC com injeção de CO<sub>2</sub> (CO<sub>2</sub>) (Figura 3). As concentrações de CO<sub>2</sub> do ar de cada tratamento durante os quatro ensaios estão descritas na tabela 1.





**Figura 3** – Tratamentos realizados. **A** - Testemunha sem estufa de topo aberto e sem injeção de CO<sub>2</sub> (T). **B** – Estufa de topo aberto sem injeção de CO<sub>2</sub> (E). **C** – Estufa de topo aberto com injeção de CO<sub>2</sub> (CO<sub>2</sub>).

Tabela 1 - Concentração do dióxido de carbono do ar, nos cinco ensaios realizados para a avaliação do efeito do aumento da concentração do CO<sub>2</sub> sobre a ferrugem da alfafa, fusariose e o crescimento da alfafa.

		Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4
Início		Set/2012	Jun/2013	Jan/2014	Jun/2014
Fim		Dez/2012	Ago/2013	Mar/2014	Ago/2014
	T	381±35	403 ±30	378 ±55	361 ± 45
	[CO <sub>2</sub> ]				
	μmol mol <sup>-1</sup>				
	E	400 ±38	400 ± 42	389 ± 52	404 ± 40
	CO <sub>2</sub>	503 ± 62	554 ± 103	498 ±36	602 ± 97

T=Testemunha; E= Estufa sem injeção de CO<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>= Estufa com injeção de CO<sub>2</sub>.

### 5.3. Adubação

A adubação foi realizada conforme as indicações para a região Sudeste. As doses de potássio e fósforo para formação e manutenção da cultura da alfafa foram usadas de acordo com apresentadas na Tabela 2 (IAC, 1996).

Tabela 2 - Recomendação de adubação fosfatada e potássica para formação e manutenção (cobertura) da cultura da alfafa, na região Sudeste do Brasil.

<b>Formação N</b> <b>(kg/ha)</b> <b>(plantio)</b>	<b>P no Solo (mg/dm<sup>3</sup>)</b>				<b>K no Solo (mmolc/dm<sup>3</sup>)</b>				<b>S</b> <b>(kg/ha)</b>
	<b>0-6</b>	<b>7-15</b>	<b>15-40</b>	<b>&gt;40</b>	<b>0-0,7</b>	<b>0,8-1,5</b>	<b>1,6-3,0</b>	<b>&gt;3,0</b>	
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (kg/ha)				K <sub>2</sub> O (kg/ha)				
<b>0</b>	150	130	100	50	160	130	100	60	50
<b>Manutenção</b> <b>N (kg/ha)</b> <b>(plantio)</b>	<b>P no Solo (mg/dm<sup>3</sup>)</b>				<b>K no Solo (mmolc/dm<sup>3</sup>)</b>				<b>S</b>
	<b>0-6</b>	<b>7-15</b>	<b>15-40</b>	<b>&gt;40</b>	<b>0-1,5</b>	<b>1,5-3,0</b>	<b>&gt;3,0</b>		
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (kg/ha/ano)				K <sub>2</sub> O (kg/t) MS <sup>a</sup>				<b>S</b> <b>(kg/t)</b> <b>MS<sup>a</sup></b>
<b>0</b>	100	100	80	40	35	30	15	4	

Fonte: Adaptado do Boletim Técnico 100 do IAC (1996).

\* MS = Matéria seca colhida. Para pastejo ou matéria original, considerar MS = matéria fresca x 0,20. Para feno, considerar MS = feno 0,85.

Os micronutrientes requeridos pela cultura foram disponibilizados com a aplicação de adubação orgânica, pois, além de ser um corretivo natural da fertilidade dos solos, também é uma fonte de micronutrientes. O boro, um dos micronutrientes mais requeridos pela alfafa, foi aplicado conforme a recomendação de 20 kg/ha/ano de bórax aplicado a lanço e durante o preparo do solo (IAC, 1996).

### 5.4. Inoculação das sementes

Antes de todos os quatro plantios realizados durante os anos de 2012, 2013 e 2014 as sementes de alfafa foram inoculadas com a bactéria *Sinorhizobium meliloti* pelo método da inoculação direta. O inoculante da empresa Bioagro (BR 287 – Km 02 – nº 2500 – Vila Cerrito – CEP 97060 -500 - Santa Maria/RS –CNPJ – 92.213.057/0001-97) foi misturado às sementes na proporção de 200 g

para cada 20 kg de sementes juntamente com a solução aderente (água e açúcar na proporção 1:1), sob agitação até que todas entrassem em contato com a solução.

### 5.5. Plantio

Em todos os quatro plantios realizados durante os anos de 2012, 2013 e 2014 as sementes de alfafa da cultivar Crioula foram semeadas diretamente no solo das OTCs, obedecendo às recomendações da cultura (RASSINI, FERREIRA e MOREIRA, 2006). A semeadura da alfafa foi feita de maneira manual, a lanço, em linhas espaçadas de 15 a 20 cm, fornecendo a população de 140 a 150 plantas por metro linear. Foi realizado o semeio de cinco linhas por parcela (Figura 4). Antes de distribuir as sementes, foram feitos com um riscador, sulcos no solo, sulcando a profundidade de 3 cm. Após a semeadura, as sementes foram cobertas com 2 cm de terra.



**Figura 4** – Plantio em linhas da alfafa.

### 5.6. Avaliações

Nos quatro ensaios foi avaliada a altura de plantas. No primeiro e segundo ensaios foi realizado o número de flores, a composição bromatológica, a produção de gases, a severidade da ferrugem, a desfolha provocada pela ferrugem e a esporulação dos esporos da ferrugem. No terceiro e quarto ensaios foram realizadas a relação entre o comprimento da altura e da raiz, o peso da massa seca da parte aérea e do sistema radicular, a severidade e incidência da fusariose.

#### 5.6.1. Altura das plantas

A medição da altura das plantas de alfafa foi realizada em todos os quatro ensaios. Foi medido entre a distância da superfície do solo e o ápice da haste



principal, com uma régua milimétrica. Foram medidas as plantas de 0,25m<sup>2</sup> durante 60 dias semanalmente a partir de 15 dias da implantação dos ensaios.

### **5.6.2. Relação entre a parte aérea e raízes**

Aos 30 e 60 dias após a semeadura foram retiradas plantas de alfafa de 0,25 m<sup>2</sup> de todos os tratamentos e, foram feitas medidas do comprimento da raiz e da haste principal com o objetivo de verificar o comportamento de crescimento da planta, pois o carbono pode ser alocado de maneira diferente ao longo do crescimento da planta. Foram retiradas plantas e pesadas de 0,25 m<sup>2</sup> dentro de cada tratamento aos 30 e 60 dias com objetivo de verificar o crescimento da planta ao longo do tempo. Essas avaliações foram realizadas no ensaio 3 e 4.

### **5.6.3. Número de flores**

A quantidade de flores foi contada aos 30, 45, 60 e 80 dias em todas as plantas nos dois primeiros ensaios.

### **5.6.4. Composição bromatológica**

Foram retiradas amostras da alfafa para realizar a análise bromatológica apenas dos ensaios 1 e 2. As plantas de alfafa foram cortadas rente ao solo dentro de cada parcela, o equivalente a um quadrado de 0,25m<sup>2</sup>. O que constituiu uma amostra para cada parcela, as amostras foram colocadas em sacos plásticos e pesadas, e posteriormente foram encaminhadas para o Laboratório de Nutrição Animal (LANA) do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA/USP), câmpus de Piracicaba, SP, onde foram realizadas as análises.

As amostras foram pesadas para determinar o peso fresco, colocadas em saco de papel e foram pré-secadas em estufa a 65 °C por 72 horas. Após a secagem, foi realizada a pesagem e moagem das amostras em moinho Wiley, usando-se peneiras com perfuração de 1 mm para as análises químicas e avaliação *in vitro*. O material moído foi colocado em sacos plásticos e armazenado em câmara fria.

A quantidade de matéria seca (MS) foi obtida pela secagem das amostras a 105 °C até peso constante em estufa de circulação de ar, calculando-se a diferença de massa antes e após a secagem, as análises químicas da matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM) e proteína bruta (PB) foram realizadas de acordo com AOAC

(1995). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) e os teores de nitrogênio em fibra em detergente neutro (N-FDN), lignina e nitrogênio em fibra em detergente ácido (N-FDA) foram determinados segundo Mertens (2002). Todas as análises foram realizadas em duplicata.

#### **5.6.5. Produção de gases**

A produção de gases foi realizada a partir de amostras dos ensaios 1 e 2 as mesmas utilizadas para a composição bromatológica. Para realizar essa produção foi realizada a técnica *in vitro* de produção de gás com sistema semiautomático (BUENO et al., 2005) foi usada com o transdutor de pressão e armazenador de dados (Pressure Press Data 800, LANA, CENA-USP, Piracicaba/São Paulo). As medições da produção de gases acumulada para cada tratamento foram lidas manualmente com intervalos de leituras de 4, 8, 12 e 24 h de incubação. Foram utilizadas 18 amostras de alfafa e uma planta padrão do laboratório (feno de alfafa) por inóculo para cada corrida.

Foi pesado cerca de 0,5 g de cada amostra, antecipadamente secas em estufas de circulação forçada a 60 °C e moídas em moinho tipo Willye com malhas de 1 mm. Essas foram colocadas em sacos F57 da Ankom® e, em seguida, foram fechados. Cada uma dessas amostras foi submetida à incubação com três inóculos ruminais diferentes, e, para cada um dos inóculos utilizou dois saquinhos (duas repetições), totalizando 40 repetições por inóculo.

Para o processo de incubação, foi empregada uma garrafa de vidro de 160 mL para cada amostra analisada. Posteriormente, em cada garrafa foi colocado o saco F57 da Ankom® fechado e identificado com a amostra devida. Depois, foram acrescentados 50 mL do meio de cultura final e 25 mL de inóculo ruminal em cada uma das garrafas. O inóculo ruminal foi retirado pela coleta da fistula ruminal de ovinos adultos da raça Santa Inês criados no CENA/USP.

Também foram montadas quatro garrafas sem sacos com as amostras, usadas como branco. As garrafas foram tampadas com rolhas de borracha, homogeneizadas manualmente e depois incubadas em estufa. A cada leitura de pressão, foi subtraído o total de gás produzido pelas garrafas sem substrato (branco), referente a cada amostra.

A quantificação da produção de gás total (PGT) de cada amostra incubada foi feita de acordo com recomendações de Bueno et al. (2005), usando-se a

seguinte fórmula:  $V = 0.1129p^2 + 4.1098p$ , onde  $V$  = ao volume do gás medido em mL e  $p$  = à pressão medida em psi.

Em paralelo, foram realizadas mensurações de pressão nos intervalos pré-determinados foram colhidas amostras para futura quantificação de  $CH_4$  produzido. As quatro coletas de todos os intervalos da mesma amostra foram armazenadas no interior de um tubo antes identificado e disposto com pressão negativa de cerca de 12 mL. Em cada uma das quatro leituras, foram recolhidos, com uso de seringas, cerca de 2,5 mL dos gases produzidos, totalizando, ao final do período de incubação, 10 mL de amostra composta. Dessas amostras totais colhidas durante o ensaio de produção de gases, foi utilizado cerca de 1 mL para quantificação do  $CH_4$ . As amostras foram analisadas através de cromatografia gasosa, com o uso do equipamento shimadzu.

Depois dessa etapa, os sacos foram retirados das garrafas e foram colocados em recipientes contendo água gelada para a interrupção da fermentação. Foi realizada a determinação da FDN dessas amostras contidas nos saquinhos. Com esses procedimentos, foram obtidas informações relacionadas à degradabilidade *in vitro* da matéria orgânica (DVMO) quanto à degradabilidade *in vitro* da fração de FDN (DVFDN) das amostras incubadas.

A DVMO foi estimada baseada na diferença entre a quantidade total de matéria orgânica (MO) presente na amostra incubada e a quantidade de resíduos não degradados após o fim do período de incubação. O mesmo princípio foi aplicado para o cálculo da DVFDN, sendo levado em consideração nesse caso à quantidade total de FDN presente na amostra incubada.

#### **5.6.6. Inoculação das plantas e avaliação da ferrugem**

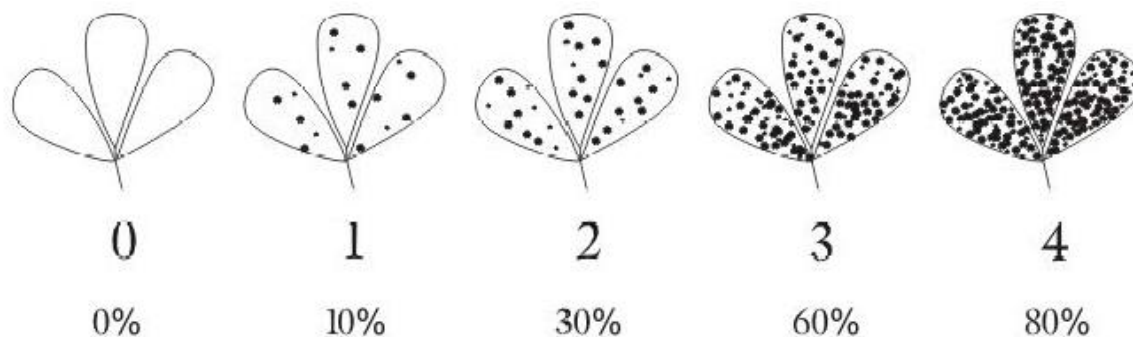
As inoculações da ferrugem foram realizadas nos dois primeiros ensaios quando as plantas completaram 60 dias após a germinação. As plantas foram inoculadas com uma suspensão do patógeno, na concentração de  $2.10^4$  uredósporos/mL de água destilada, (aproximadamente 1 mL de suspensão/planta) através de um aspersor de 50mL. Após as inoculações, as plantas foram cobertas com plásticos pretos e permaneceram pelo período de 12 h em câmara úmida e escura (SILVA, RIOS e SILVA, 2001) (Figura 5).



**Figura 5-** Plantas de alfafa após a inoculação da ferrugem.

A severidade de ferrugem foi avaliada observando-se em cada uma das dez hastes coletadas por parcela, a quinta folha a partir do ápice, contando-se o número de lesões nessa folha. Adotou-se a porcentagem de área foliar doente de 0 a 100 %, conforme mostra a Figura 6 (JULIATTI et al., 2011).

A desfolha provocada pela ferrugem foi avaliada no ensaio 1 e 2 conforme a metodologia descrita por THAL e CAMPBELL (1987), que consiste em coletar, de modo aleatório dez hastes por parcela e determinar a porcentagem de nós desfolhados, segundo a fórmula: [(número de nós desfolhados / número total de nós da planta) x 100].



Fonte: (JULIATTI et al., 2011).

**Figura 6 -** Escala diagramática para estimativa da severidade da ferrugem.

Para quantificar as pústulas e esporos de *Uromyces*, foram avaliados o segundo e terceiro pares de folhas de 10 plantas de alfafa aos 14, 21 e 28 dias depois da inoculação. Para avaliar o número médio de pústulas por folha, cada folha foi avaliada contando-se o número de pústulas em microscópio estereoscópico. Para avaliação de número médio de esporos por pústula, foram colocadas quatro folhas de cada planta em um tubo de ensaio contendo 2 mL de água destilada e Tween 80 (0,1%). Posteriormente, os tubos foram agitados em vortex por 5 minutos, realizando-se duas leituras, em câmara de

Neubauer, por tubo (TEIXEIRA et al., 2005). As análises foram realizadas em quatro plantas por parcela. Essas avaliações foram realizadas nos ensaios 1 e 2.

#### **5.6.7. Inoculação de plantas e avaliação da fusariose**

A inoculação do fusário foi realizada nos ensaios 3 e 4. Após 80 dias da germinação, foi realizada a inoculação, sendo utilizado um isolado de *Fusarium oxysporum*, obtido de plantas de alfafa infectadas. Para a produção do inóculo, o isolado foi repicado para placas de Petri contendo meio BDA e incubado por sete dias em temperatura ambiente. Foram adicionados 20 mL de água destilada esterilizada em cada placa e a superfície das colônias raspadas com lâminas de vidro. A suspensão de conídios foi filtrada em gaze dupla e ajustada para  $1 \times 10^6$  conídios/mL, com auxílio de câmara de Neubauer. Foi adotado o método de inoculação por fermento na raiz (MENEZES, 1972), injetando 20 mL da suspensão por planta nas raízes ramificadas no solo com auxílio de uma seringa. Foram inoculadas 10 plantas por parcela escolhidas aleatoriamente.

O isolado de *Fusarium* foi enviado para identificação e foi realizado o postulado de Koch antes da inoculação das plantas no campo.

A incidência da doença foi registada através da contagem do número de plantas que apresentam sintomas de infecção, em intervalos de 5 dias. A severidade da doença foi avaliada até 30 dias após inoculação, utilizando uma escala de 0-5, onde: 0 representa à ausência de infecção; 1 corresponde a sintomas de clorose foliar inicial; 2 corresponde a sintomas de clorose moderados; 3 corresponde a clorose foliar grave e redução do crescimento; 4 corresponde a sintomas de clorose foliar e inibição do crescimento e murcha grave e 5 plantas totalmente amarelecidas, plantas murchas seguido de morte (ANTONOPOULOS e ELENA, 2008).

#### **5.7. Análise dos dados**

Os dados foram analisados utilizando o programa computacional MINITAB versão 14. Todos os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1. Impacto do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> sobre o desenvolvimento das plantas de alfafa

As plantas de alfafa, quando submetidas a altas concentrações de CO<sub>2</sub>, apresentaram uma maior altura quando comparada com as testemunhas com concentração ambiente (Tabela 3). Cheng, (2009) e Santos et al., (2013) encontraram resultados semelhantes nos seus estudos, isto é, as plantas apresentaram maior altura quando expostas a altas concentrações de CO<sub>2</sub>. Esse aumento na altura das plantas já era esperado, pois na maioria dos trabalhos relacionados ao tema, as plantas têm uma maior altura quando submetidas a altas concentrações de dióxido de carbono.

Possivelmente, esse maior crescimento das plantas está relacionado com a fotossíntese, que tem a sua eficiência melhorada devido ao aumento da disponibilidade de carbono no ambiente no qual as plantas estão sendo cultivadas. A alfafa é planta do tipo C4 e essas plantas apresentam um menor crescimento quando submetidas a altas concentrações de CO<sub>2</sub>, do que as plantas do tipo C3. De acordo com Erickson et al., (2013), plantas do tipo C3 tem cerca de 40% da fotossíntese melhorada quando estimuladas a altas concentrações de CO<sub>2</sub> e as plantas C4 tem apenas 13%, no entanto, as plantas em estudo apresentaram um maior crescimento e significativo com relação às testemunhas cerca de 40% maiores que as plantas que foram cultivadas sem a injeção de CO<sub>2</sub>. As altas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico podem aumentar a taxa fotossintética e

eficácia do uso da água nas plantas, devido à diminuição na condutância estomática e transpiração (DRAKE; GONZALEZ-MELER e LONG, 1997; CHMURA, ANDERSON e HOWE, 2011).

**Tabela 3** - Médias das alturas das plantas de alfafa após 80 dias de cultivo em estufas de topo aberto com injeção de CO<sub>2</sub> e sem injeção.

TRATAMENTO	ALTURA(cm)
CO <sub>2</sub>	78 a
E	40 b
T	39 b
TEMPO	
2012	53,6 a
2013	52,3 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade. T=Testemunha; E= Estufa sem injeção de CO<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>= Estufa com injeção de CO<sub>2</sub>. Coeficiente de variação igual a 3,72.

As plantas cultivadas em alta concentração de CO<sub>2</sub> também apresentaram uma maior biomassa que as plantas cultivadas sem injeção de CO<sub>2</sub>, tanto na parte radicular como na parte aérea (Tabela 4). Provavelmente, a modificação nos processos de fotossíntese influenciou no aumento da altura e biomassa das plantas quando cultivadas em elevadas concentrações de CO<sub>2</sub>.

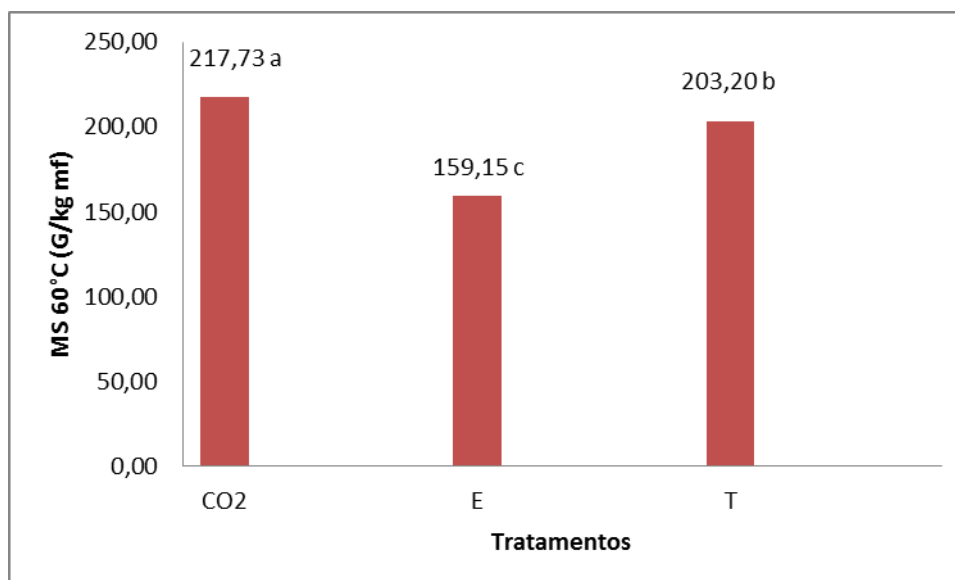
**Tabela 4** - Biomassa das raízes (R) e da parte aérea (PA) de plantas de alfafa, aos 30 e 60 dias de cultivo em estufas de topo aberto com injeção de CO<sub>2</sub> e sem injeção.

TRATAMENTO	30 dias		60 dias	
	PA (g)	R (g)	PA (g)	R (g)
CO <sub>2</sub>	9,2 a	2,4 a	26,9 a	6,9 a
E	2,2 b	0,9 b	13,2 b	3,9 b
T	3,6 a	1,3 b	14,3 b	4,1 b
TEMPO				
Jan 2014	4,6 a	1,5 a	17,2 a	4,7 a
Jun 2014	4,6 a	1,5 a	17,2 a	4,7 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade. T=Testemunha; E= Estufa sem injeção de CO<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>= Estufa com injeção de CO<sub>2</sub>. Coeficiente de variação igual a 15,5.

Em estudo realizado com plantas de tomate em alta concentração de CO<sub>2</sub> as plantas também apresentaram maior biomassa (JWA; WALLING, 2002). A elevação da concentração do CO<sub>2</sub> aumenta a fotossíntese e a produção de biomassa (PENG et al., 2004). As plantas da alfafa expostas à elevada concentração de CO<sub>2</sub> também apresentaram maior peso de matéria seca quando comparadas as plantas cultivadas em concentração de CO<sub>2</sub> ambiente (Figura 7). Maior quantidade de matéria seca pode indicar uma maior produção de feno, pois é a matéria seca que é utilizada para o preparo do feno. Esse material é utilizado para animais de alto valor econômico (BEUSELINCK et al., 1994).





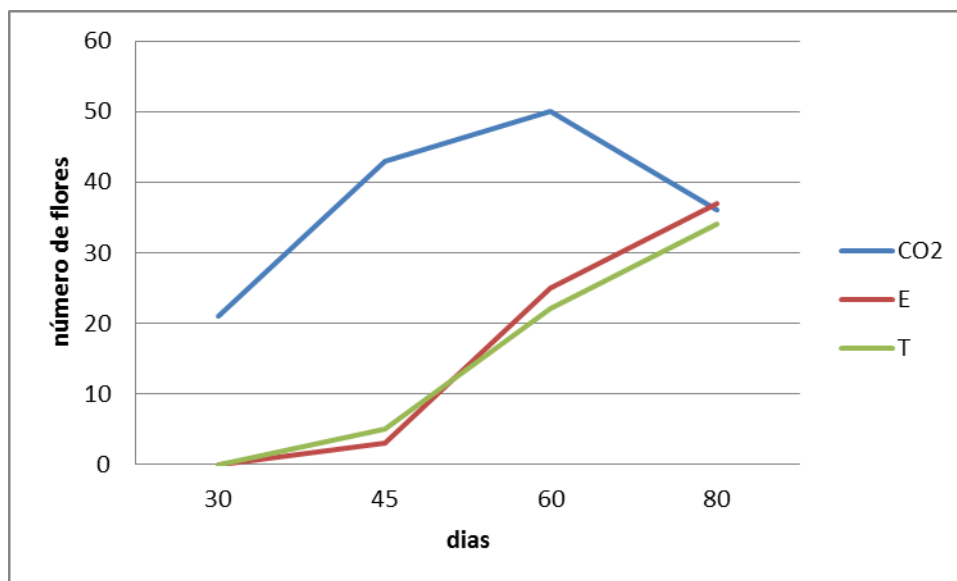
**Figura 7** – Matéria seca (MS) da parte aérea a 60°C das estufas de topo aberto com injeção de CO<sub>2</sub> e sem injeção.

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade. T=Testemunha; E= Estufa sem injeção de CO<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>= Estufa com injeção de CO<sub>2</sub>. MF= Matéria Fresca.

Os novilhos quando ingeriram 10 kg de MS de alfafa ganharam 1 kg de peso vivo diário (CASTILLO, et al., 1998). Assim, as plantas submetidas à alta concentração de CO<sub>2</sub> podem ser economicamente mais viáveis considerando apenas o peso da MS, no entanto, também deve se verificar o valor nutritivo dessas plantas cultivadas em ambiente enriquecido com CO<sub>2</sub>.

*Stylosanthes scabra*, uma gramínea também utilizada para a alimentação de animais, foi cultivada em alta concentração de CO<sub>2</sub> e as plantas também mostraram acréscimo na altura e na biomassa quando comparadas com as plantas em concentração ambiente (PANGGA; CHAKRABORTY e YATES, 2004).

As plantas de alfafa são produzidas para alimentação de animais e também são cultivadas para a produção de sementes e, para isso, é necessário que elas tenham uma boa floração. Nesse estudo, foi possível observar que as plantas cultivadas em ambiente enriquecido com dióxido de carbono apresentaram maior número de flores, além do surgimento das flores ter sido antecipado em relação às plantas cultivadas em concentração ambiente (Figura 8).



**Figura 8** - Quantidade de flores produzidas nas estufas de topo aberto com injeção de CO<sub>2</sub> e sem injeção.

T=Testemunha; E= Estufa sem injeção de CO<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>= Estufa com injeção de CO<sub>2</sub>.

O maior número de flores em ambiente enriquecido com CO<sub>2</sub> vem acompanhado dos outros resultados (biomassa, altura, MF) em que as plantas expostas ao CO<sub>2</sub> apresentaram maiores valores que as plantas testemunhas, em estudo realizado por Cooper e Watson (1968), os quais verificaram que o máximo de acúmulo da coroa e peso das raízes era notado quando ocorria o começo do florescimento e a floração ótima.

As plantas cultivadas em altas concentrações de CO<sub>2</sub> podem apresentar um potencial melhor para a produção de sementes, no entanto, ainda deve se observar outros fatores ambientais, como temperatura, pois para a produção de sementes vários fatores ambientais podem interferir no rendimento das sementes. O carbono é usado na planta de acordo com estágio de desenvolvimento da mesma. No início, o carbono é usado para a germinação da semente, depois para o crescimento, floração e produção das sementes.

As plantas desse estudo apresentaram uma relação maior do comprimento da haste dividido pelo comprimento das raízes aos 30 e 60 dias (Tabela 5).

**Tabela 5** – Relação do comprimento da haste (h) com o comprimento da raiz (r), aos 30 e 60 dias de cultivo nas estufas de topo aberto com injeção de CO<sub>2</sub> e sem injeção.

TRATAMENTO	30 dias	60 dias
	h/r (cm)	h/r (cm)
CO <sub>2</sub>	2,7 a	2,0 b
E	2,4 b	2,2 a
T	2,4 b	2,2 a
TEMPO		
Jan 2014	2,6 a	2,1 a
Jun 2014	2,4 b	2,1 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade. T=Testemunha; E= Estufa sem injeção de CO<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>= Estufa com injeção de CO<sub>2</sub>. Coeficiente de variação de 13,3.

As hastes são responsáveis por 69% a 89% da produção total das plantas de alfafa, pois as hastes interceptam mais a radiação solar (GOSSE et al., 1982). Segundo Durand et al. (1989), uma diminuição na disponibilidade de carbono originou a restrição no desenvolvimento da parte aérea de plantas de alfafa. Assim, a quantidade de carbono foi estocada nos primeiros 30 dias mais na parte aérea e depois foi estocado mais nas raízes, segundo os dados encontrados nesse trabalho. A maior disponibilidade no começo do ciclo da cultura pode gerar maior crescimento da parte aérea no início do plantio, pois a planta intercepta a radiação solar para os processos de fotossíntese. Após certo crescimento da haste, a fotossíntese diminui a velocidade do carbono começar a ser estocado nas raízes. Na alfafa, esse processo fica mais evidente, pois as plantas geralmente são utilizadas para rebrote e precisam de reserva energética para o rebrote.

## 6.2. Efeito do CO<sub>2</sub> na ferrugem da alfafa

As plantas com sintomas de ferrugem apresentaram maior severidade e desfolha provocada pela doença nos tratamentos com injeção de CO<sub>2</sub> quando comparadas com as testemunhas (Tabela 6).

**Tabela 6** - Severidade (% de área foliar infectada) da ferrugem e a desfolha (%) em estufas de topo aberto com e sem injeção de CO<sub>2</sub>.

TRATAMENTO	SEV (%)	DESF (%)
CO <sub>2</sub>	90,3 a	35,8 a
E	37,8 b	12 b
T	37,5 b	9,2 c
TEMPO		
2012	55,6 a	18,6 a
2013	54,9 b	19,5 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade. T=Testemunha; E= Estufa sem injeção de CO<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>= Estufa com injeção de CO<sub>2</sub>. Coeficiente de variação da SEV de 10,83 e DESF de 11,13.

Em alta concentração de CO<sub>2</sub>, deve haver um aumento na quantidade de patógenos de gramíneas do tipo C3, talvez devido à diminuição do estresse hídrico, ao acréscimo da longevidade da folha e ao aumento da taxa fotossintética, fatores esses que devem favorecer a doença fúngica foliar. Os fungos foliares podem alterar os processos de pastagens, como por exemplo, diminuir a qualidade das pastagens com a perda do rendimento, como na pastagem o que mais importa é a folha esses patógenos com danos com manchas e desfolhas podem alterar a quantidade e ou qualidade das folhas que são utilizadas para o alimento animal, assim o aumento do ataque de patógenos devido às mudanças climáticas pode afetar os ecossistemas de pastagens influenciando na quantidade e ou qualidade dessa pastagem (MITCHELL et al., 2003).

O clima afeta a severidade de muitas doenças de plantas e as alterações climáticas são passíveis de alterar os padrões de severidade das doenças das culturas. Avaliar possíveis padrões futuros pode ajudar a focar o melhoramento da cultura e o manejo da doença. Podem ocorrer alterações na colonização do patógeno biotrófico nos tecidos do hospedeiro devido aos efeitos do CO<sub>2</sub> na fisiologia das plantas (EASTBURN, MCELRONE e BILGIN, 2011). SCHUMMANN e D' ARCY (2006), mostraram que fungos biotróficos, como o agente etiológico da ferrugem, apresentam um extenso período de interação fisiológica com o hospedeiro, alimentando-se de células vivas do hospedeiro. Sendo assim, essa interação do fungo com a planta, devido à mudança da fisiologia da planta pelo efeito do aumento da concentração de CO<sub>2</sub>, como por exemplo, o

aumento quantidade de cera epicuticular, pode ser afetado e refletir no estabelecimento do patógeno na planta.

As plantas em alta concentração de CO<sub>2</sub> apresentam maior dossel, o que pode facilitar a dispersão dos esporos do patógeno e aumentar o ciclo da doença infectando outras plantas próximas às plantas já doentes. É difícil determinar o efeito do CO<sub>2</sub>, principalmente em fungos biotróficos, que têm o ciclo de vida curto e ficam pouco tempo expostos ao aumento da concentração de CO<sub>2</sub>.

Vários trabalhos relacionando a doença de plantas e ao aumento da concentração de CO<sub>2</sub> apresentam dados em que a severidade da doença foi reduzida, como citam Santos et al. (2013), que verificaram que a murcha de *Ceratocystis* teve a severidade menor nas plantas de eucalipto expostas ao aumento do CO<sub>2</sub>; Ghini et al, (2014), constataram plantas de eucalipto quando submetidas a altas concentrações de CO<sub>2</sub> apresentavam severidade da ferrugem reduzida e McElrone et al. (2005), verificaram que plantas de *Acer rubrum* com sintomas de *Phyllosticta mínima* apresentavam redução significativa da área lesionada em ambiente enriquecido com CO<sub>2</sub>. No entanto, também existe trabalho que mostram que a doença teve um aumento em ambiente com a concentração de CO<sub>2</sub> elevada, como o trabalho realizado por McElrone et al. (2010), no qual mostraram que em ambiente enriquecido com CO<sub>2</sub> houve um acréscimo da área lesionada de *Cercospora liquidambaris* e *C. cercidicola* em *Liquidambar styraciflua* e *Cercis canadensis*, respectivamente. Assim o efeito do aumento da concentração do CO<sub>2</sub> pode ser bastante variável, de acordo com o patossistema. Isso provavelmente ocorre devido ao ambiente influenciar tanto a suscetibilidade da planta hospedeira quanto a multiplicação, a sobrevivência e as atividades do patógeno.

A esporulação do patógeno é uma das fases que podem ser influenciada pelo aumento da concentração do gás em estudo. Nesse trabalho, as plantas inoculadas com a ferrugem e expostas ao CO<sub>2</sub> apresentaram um maior número de pústulas e esporos por folha do que as plantas controle (Tabelas 7 e 8).

**Tabela 7** – Número médio de pústulas por folha em estufas de topo aberto com injeção de CO<sub>2</sub> e sem injeção.

TRATAMENTO	Dias		
	14	21	28
	Número de pústulas/folha		
T	2 b	5 b	11 b
E	2 b	5 b	10 b
CO <sub>2</sub>	14 a	26 a	50 a
TEMPO			
2012	5,4 a	10,5 a	23,4 a
2013	5,5 a	10,8 a	22,5 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade. T=Testemunha; E= Estufa sem injeção de CO<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>= Estufa com injeção de CO<sub>2</sub>. Coeficiente de variação de 12,3.

Os maiores números de pústulas apresentados pelas plantas foram em ambiente enriquecido com CO<sub>2</sub> e reforçam o fato de essas plantas terem sido mais atacadas pelo patógeno. Após os 15 dias de inoculação, as plantas também apresentaram uma maior quantidade de esporos por pústula (Tabela 8), evidenciando que o patógeno sofreu impacto devido à exposição à elevada concentração de CO<sub>2</sub>.

**Tabela 8** – Número médio de esporos por pústula em estufas de topo aberto com injeção de CO<sub>2</sub> e sem injeção.

TRATAMENTO	Dias		
	14	21	28
	<b>Número de esporos 10<sup>2</sup> /pústula</b>		
T	1,22 a	1,25 b	1,23 b
E	1,28 a	1,26 b	1,21 b
CO <sub>2</sub>	1,27 a	1,53 a	1,60 a
TEMPO			
2012	1,32 a	1,37 a	1,38 a
2013	1,30 a	1,35 a	1,34 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade. T=Testemunha; E= Estufa sem injeção de CO<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>= Estufa com injeção de CO<sub>2</sub>. Coeficiente de variação de 15,6

O maior crescimento da planta em condições de alta concentração de CO<sub>2</sub> geralmente significa uma maior área de superfície para a infecção para patógenos obrigatórios. Esse fato pode, ainda, ser agravado caso a planta apresente desequilíbrio nutricional, tornando-a mais suscetível à infecção por esses patógenos. O aumento do crescimento da planta pode vir acompanhado por uma diluição dos nutrientes e, com isso, a ela se torna mais suscetível ao ataque de patógenos.

De acordo com Elad e Pertot (2014), as mudanças climáticas previstas podem afetar as taxas de desenvolvimento e sobrevivência do patógeno e modificar a susceptibilidade do hospedeiro, resultando em mudanças no impacto das doenças nas culturas, e, ainda, os efeitos dessas mudanças climáticas serão diferentes por patossistema e região geográfica.

### 6.3. Efeito do CO<sub>2</sub> na fusariose da alfafa

As plantas submetidas a altas concentrações de CO<sub>2</sub> apresentaram menor severidade da doença do que as plantas em concentração ambiente (Tabela 9). O sintoma de murcha não foi observado em nenhum dos tratamentos, esse fato deve estar relacionado com o tempo de avaliação que foi de 28 dias, pois o sintoma de murcha aparece após alguns meses depois da infecção da doença.

**Tabela 9** – Severidade (% de folhas afetadas) da fusariose da alfafa em estufas de topo aberto com e sem injeção de CO<sub>2</sub>.

TRATAMENTO	SEV (%)
CO <sub>2</sub>	12,5 b
E	59,3 a
T	57,1 a
TEMPO	
Jan 2014	42,3 a
Jun 2014	43,6 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade. T=Testemunha; E= Estufa sem injeção de CO<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>= Estufa com injeção de CO<sub>2</sub>. Coeficiente de variação de 21,7.

As plantas com melhor crescimento podem reagir melhor a doenças do tipo vascular e sofrem menos danos do que aquelas de menor porte. Santos et al. (2013) também verificaram uma menor severidade da Murcha de *Ceratocystis* em plantas de eucalipto expostas ao CO<sub>2</sub>. Possivelmente, a menor severidade da doença está relacionada apenas com os processos de defesa da planta, pois fungos de solo precisam ficar muito tempo expostos ao gás para ocorrer algum impacto (GHINI, 2005).

A biomassa das raízes também foi maior nos tratamentos com injeção do gás. Isso pode ter dificultado a colonização do fungo, e por serem mais espessas apresentassem mais rápida recuperação ao patógeno, já que esse fungo normalmente penetra nas raízes.

Os efeitos do CO<sub>2</sub> sobre as plantas são mais expressivos do que nos patógenos, uma vez que é preciso uma elevação do gás muito significativa para se constatar qualquer modificação no desempenho de microrganismos. Fungos habitantes de



solo, como é o caso do *Fusarium* em estudo, aceitam o acréscimo de 10 a 20 vezes na concentração do CO<sub>2</sub> (MANNING e TIEDMANN, 1995). Assim, o efeito que o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> exerceu nas plantas de alfafa pode ter resultado em uma maior resistência à murcha do fusário.

A maior parte dos prováveis efeitos do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico sobre as doenças de plantas pode ser intercedida por variações na fisiologia e morfologia do hospedeiro (CHAKRABORTY et al., 1998). Braga et al. (2006) verificaram aumento na produção de fitoalexinas em cultivares de soja em ambiente enriquecido com CO<sub>2</sub>, quando comparado à concentração ambiente, sugerindo que elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico podem levar a resposta de defesa das plantas a determinados patógenos. Ferrocino et al. (2013) não observaram efeito na severidade da murcha de fusário em alface em plantas submetidas ao aumento da concentração de CO<sub>2</sub>.

Além de apresentar uma menor severidade em ambiente enriquecido com CO<sub>2</sub>, a murcha de fusário também apresentou menor incidência quando comparada com a concentração ambiente (Tabela 10).

**Tabela 10** – Incidência da fusariose da alfafa em estufas de topo aberto com injeção de CO<sub>2</sub> e sem injeção.

TRATAMENTO	Incidência (%)
CO <sub>2</sub>	23,3 b
E	85 a
T	91,6 a
TEMPO	
Jan 2014	61,06 a
Jun 2014	72,2 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade. T=Testemunha; E= Estufa sem injeção de CO<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>= Estufa com injeção de CO<sub>2</sub>. Coeficiente de variação de 18,4.

Runion et al. (2010) verificaram menor incidência da doença ocasionada por *Cronartium quercuum* f. sp. *Fusifforme* em plantas de *Pinus taeda* e *Quercus rubra* com o aumento da concentração de CO<sub>2</sub>, quando comparadas à concentração de CO<sub>2</sub> ambiente. Esse resultado está de acordo com os dados encontrados no

presente trabalho. Plantas de cevada com oídio em altas concentrações de CO<sub>2</sub>, também apresentaram uma diminuição da incidência da doença (HIBBERD, WHITBREAD e FARRAR, 1996). Silva e Ghini (2014), também verificaram uma menor incidência da mancha foliar em eucalipto em ambiente enriquecido com CO<sub>2</sub>.

Desse modo, com a alteração da composição da atmosfera poderá haver realocação de culturas e de suas doenças e os impactos serão sentidos em termos econômicos de perda da colheita. As mudanças nos níveis de CO<sub>2</sub> podem influenciar a doença modificando fisiologia do hospedeiro e a resistência. Além disso, mudanças de temperatura, precipitação, bem como a frequência de eventos extremos vão influenciar na epidemiologia da doença (REDDY, 2015). Assim, doenças como a murcha de fusario que atualmente é uma doença secundária para a cultura da alfafa, poderá se tornar cada vez mais irrelevante, ou ainda poderão ocorrer alterações na sua distribuição geográfica.

No entanto, é importante salientar como as duas doenças na mesma cultura se comportaram de maneira diferente ao aumento da concentração de CO<sub>2</sub>, e que por ser um fungo que ataca a parte aérea da planta e outro um fungo do solo, também tiveram reações diferentes à exposição do CO<sub>2</sub>. Mostrando-nos, que de fato cada patógeno, planta e ambiente tem um comportamento diante das mudanças climáticas, e que por sua vez, cada um deve ser estudado em particular, para que medidas de adaptação possam ser aferidas.

#### **6.4. Efeito do CO<sub>2</sub> na composição bromatológica e produção de gases da alfafa**

Na tabela 11, estão apresentados os valores da análise bromatológica da matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDNom), fibra em detergente ácido (FDAom), lignina, nitrogênio em fibra em detergente neutro (N-FDN) e nitrogênio em fibra em detergente ácido (N-FDA). Os valores encontrados não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos. No entanto, observa-se que a MO, FDNmo e a lignina apresentaram valores com um maior valor quando comparados com as testemunhas. Quando esses valores são ajustados com a maior produção ocasionada pelo aumento da concentração de CO<sub>2</sub>, essa diferença pode se tornar relevante e influenciar em outros processos da cadeia produtiva da alfafa, como no caso da degradabilidade da matéria orgânica.

**Tabela 11** - Composição bromatológica das alfafas com injeção de dióxido de carbono e sem injeção.

TRATAMENTO	MM *	MO *	PB *	FDNom *	FDAom *	Lignina *	N-FDN *	N-FDA *
T	72,1 a	927,5 a	210,0 a	582,2 a	396,5 a	144,5 a	28,8 a	22,6 a
E	75,5 a	924,5 a	200,4 a	581,5 a	389,6 a	147,7 a	29,7a	21,0 a
CO <sub>2</sub>	70,9 a	929,1 a	199,0 a	605,0 a	395,4 a	157,0 a	28,0 a	20,0 a
TEMPO								
2012	67,3 a	926 a	196,6 a	603,5 a	398,0 a	155,0 a	26,8 a	22,8 a
2013	78,3 b	927,1 a	209,7 a	575,6 a	389,6 a	144,4 a	30,9 a	19,6 a

\* Valores expressos em g/kg de matéria seca. Médias seguida de mesma letra não diferem pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade. T=Testemunha; E= Estufa sem injeção de CO<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>= Estufa com injeção de CO<sub>2</sub>. MM= Matéria Mineral; MO= Matéria Orgânica; PB= Proteína Bruta; FDNom = fibra em detergente neutro; FDAom= fibra em detergente ácido; N-FDN= nitrogênio em fibra em detergente neutro; N-FDA= nitrogênio em fibra em detergente ácido.

O teor de PB dos alimentos empregados na alimentação de animais provê o nitrogênio necessário para a reprodução das bactérias responsáveis pela ação fermentativa que acontece no rúmen. Assim, é importante no processo digestivo desses animais. Como a proteína bruta foi menor nos tratamentos com injeção de CO<sub>2</sub>, esse fato pode ter influenciado a produção dos gases e a menor quantidade de nitrogênio encontrada nesse tratamento. Contudo, outros estudos verificando a quantidade de nitrogênio nas plantas expostas ao CO<sub>2</sub> mostraram que as plantas apresentavam menor quantidade de nitrogênio, possivelmente porque essas plantas tinham a maior altura e esse nitrogênio foi diluído na planta (RUNION et al., 2010; SANTOS et al., 2013).

Os valores de PB para todos os tratamentos estão de acordo com uma dieta satisfatória para os animais (ARAÚJO FILHO et al., 2002). O teor de PB contribui para uma melhor qualidade das pastagens, enquanto que os valores de FDN e FDA diminuem a qualidade dessas (JAYANEGARA, MAKKAR e BECKER, 2009).

Na Tabela 12, encontram-se os valores da degradabilidade *in vitro* da matéria orgânica e da fibra em detergente neutro (DMO, g/Kg DFDN) em 24 h de incubação. Observa-se que o valor obtido da DMO e DFDN não diferiu estatisticamente entre os tratamentos. Apenas houve diferença das médias ao longo do tempo.

**Tabela 12** – Degradabilidade da matéria orgânica e fibra em detergente neutro em estufas de topo aberto com injeção de dióxido de carbono e sem injeção.

TRATAMENTOS	DMO (g/Kg)	DFDN (g/Kg)
CO <sub>2</sub>	595,5 a	378,6 a
E	613,0 a	383,4 a
T	617,8 a	391,4 a
TEMPO		
2012	638,1 a	352,3 b
2013	579,5 b	416,6 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade. T=Testemunha; E= Estufa sem injeção de CO<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>= Estufa com injeção de CO<sub>2</sub>. CH<sub>4</sub>= Gás Metano, DMO = Degradabilidade *in vitro* da Matéria Orgânica; DFDN= Degradabilidade *in vitro* da Fibra Detergente Neutro; GP= Produção de Gases.

As quantidades de fibra e lignina foram maiores no ano de 2012 o que pode ter interferido na degradabilidade da matéria orgânica, pois existem correlações negativas entre fibra em detergente ácido e ligninas com a digestibilidade da matéria orgânica de várias gramíneas e leguminosas forrageiras (AMMAR et al., 2005). Segundo Nozella (2006), a consequência negativa da composição da parede celular na produção de gases pode ser devido à diminuição da atividade microbiana por elevar as condições adversas do meio com o progresso de incubação. A menor quantidade de lignina na planta implica em uma maior digestibilidade pelo animal.

Os maiores valores de degradabilidade da MO em relação à FDN comprovam a relação entre o baixo teor de fração fibrosa e alta degradabilidade em forrageiras (JAYANEGARA et al., 2009).

A produção de gases em DMO e FDN foram menores e diferentes estatisticamente no de 2012 quando comparados a 2013. A produção de gases no ambiente ruminal pode estar relacionada à qualidade da dieta ingerida pelos animais, desse modo, a maior produção de gases está equiparada com o aumento da fração fibrosa e redução da fração solúvel dos carboidratos reduz.

**Tabela 13** - Produção de gases e metano das alfafas em estufas de topo aberto com injeção de dióxido de carbono e sem injeção.

TRATAMENTOS	CH <sub>4</sub> effic (%)	GP (mL/gDMO)	CH <sub>4</sub> (mL/gDMO)	GP (mL/gFDN)	CH <sub>4</sub> (mL/gDFDN)
CO <sub>2</sub>	8,6 a	82,3 a	7,1 a	52,4 a	4,5 a
E	11,8 a	85,5 a	10,2 a	53,5 a	6,3 a
T	8,8 a	88,2 a	7,8 a	55,7 a	4,9 a
TEMPO					
2012	10,7 a	82 b	8,9 a	49,9 b	5,4 a
2013	8,7 a	88,6 a	7,8 a	57,9 a	5,1 a

Medias seguidas de mesma letra não diferem ao teste de Tuckey 5%. T=Testemunha; E= Estufa sem injeção de CO<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>= Estufa com injeção de CO<sub>2</sub>. CH<sub>4</sub>= Gás Metano, GP= Produção de Gases.

Assim, as diferenças encontradas entre a quantidade de fibra degradada, produção de gases e metano está de acordo com o esperado, embora não tenha ocorrido diferença estatística na quantidade de fibra degradada no ano de 2012 e 2013, a quantidade de fibra foi maior em 2012. A qualidade da alfafa colhida em 2012 e 2013 foi influenciada pelas variáveis do clima, interferindo na quantidade de fibra e produção dos gases.

## 7. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nas condições em que foram realizados os ensaios, pode-se concluir que o aumento na concentração de CO<sub>2</sub> do ar resulta no melhor crescimento da alfafa, produção de biomassa e teor de fibras. A ferrugem da alfafa tende ter a severidade aumentada em ambiente enriquecido com CO<sub>2</sub> enquanto que a murcha do fusário diminui a severidade. A produção de gases totais não deve sofrer alterações com a elevação da concentração de CO<sub>2</sub>.

## 8. REFERÊNCIAS

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. Burlington, MA: Elsevier Academic, 2005. 922p.

AMMAR, H.; LÓPEZ, S.; GONZÁLEZ, J. S.; RANILLA, M. J. Chemical composition and in vitro digestibility of some Spanish browse plant species. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 84, p. 197–204, 2004.

ANTONOPOULOS, D.F.; ELENA, E K. Susceptibility of Greek alfalfa and clover cultivars to *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis* and potential methods of disease control, **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 115, n. 4, p. 162–166, 2008.

ARAÚJO FILHO, J. A.; CARVALHO, F. C.; GARCIA, R.; SOUSA, R. A. Efeitos da manipulação da vegetação lenhosa sobre a produção e compartimentalização da fitomassa pastável de uma caatinga sucessional. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 11-19, 2002.

BEUSELINCK, P. R.; BOUTON, J. H.; LAMP, W. O.; MATCHES, A. G.; McCASLIN, M. H.; NELSON, C. J.; RHODES, L. H.; SHEAFFER, C. C.; VOLENEC, J. J. Improving legume persistence in forage crop systems. **Journal of Production Agriculture**, v. 7, n. 3, p. 311- 322, 1994.

BOTREL, M. de A.; ALVIM, M.J. Avaliação de cultivares de alfafa na zona da mata de Minas Gerais. **Revista PAB**, v. 32, n. 9, 1997.

BRAGA, M., R.; AIDAR, M., P., M. ; MARABESI, M., A.; GODOY, J., R., L., de. Effects of elevated CO<sub>2</sub> on the phytoalexin production of two soybean cultivars differing in the resistance to stem canker disease. **Environmental and Experimental Botany**, v. 58, p. 85-92, 2006.

BROWN, H.T.; ESCOMBE, F. The influence of varying amounts of carbon dioxide in the air on the photosynthetic process of leaves and on the mode of growth of plants. **Proceedings of the Royal Society of London**, v. 70, p. 397–413, 1902.

BUENO, I.C.S.; CABRAL FILHO, S.L.S.; GOBBO, S.P. et al. Influence of inoculum source in a gas production method. **Animal Feed Science and Technology**, v.123-124, p.95-105, 2005.

CARVALHO, C.A.C. De; SILVA, E. De O.; BEZERRA, M.A. Impact of climate change on plants, fruits and grains. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 27, n. 1, p. 205 – 212, 2014.

CASTILLO, A.R.; BEEVER, D.E.; GREGORET.; R.F.; ONETTI, S.G.; QUAINO, O.R. The effect of supplementary carbohydrate composition on lactational performance in dairy cows grazing alfalfa pasture. **Proceedings of the British Society of Animal Science**, London, n.200, 1998.

CHAKRABORTY, S. et al. Potential impact of climate change on plant diseases of economic significance to Australia Australasian Plant Pathology, v. 27, p. 15–35, 1998.

CHAKRABORTY, S.; TIEDEMANN, A.V.; TENG, P.S. Climate change: potential impact on plant diseases. **Environmental Pollution**, v. 108, p. 317–326, 2000.

CHAKRABORTY, S.; LUCK, J.; HOLLAWAY, G.; FREEMAN, A.; NORTON, R.; GARRETT, K.A.; PERCY, K.; HOPKINS, A.; DAVIS, C.; KARNOSKY, D.F. Impacts of global change on diseases of agricultural crops and forest trees. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, **Nutrition and Natural Resources**, v. 3, p. 1-15, 2008.

CHAPIN, III, F.S.; CARPENTER, S.R.; KOFINAS, G. P.; FOLKE C. et al. Ecosystem stewardship: sustainability strategies for a rapidly changing planet. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 25, p. 241-249, 2010.



CHENG, S. Changes in root growth and relationships between plant organs and root hydraulic traits in American elm (*Ulmus americana* L.) and red oak (*Quercus rubra* L.) seedlings due to elevated CO<sub>2</sub> level. **Forestry Studies in China**, v.11(20), p.65-76, 2009.

CHMURA, D.J.; ANDERSON, P.D.; HOWE, G.T. et al. Forest responses to climate change in the northwestern United States: ecophysiological foundations and adaptive management. **Forest Ecology and Management**, v. 261, p. 1121-1142, 2011.

COOPER, C.S.; WATSON, C.A. Total available carbohydrates in roots of sainfoin (*Onobrychis viciaefolia* Scop.) and alfalfa (*Medicago sativa* L.) when grown under several management regimes, **Crop Science**, v.8, p.83-85, 1968.

CROCHEMORE, M.L. Variabilidade genética da alfafa: marcadores agromorfológicos e moleculares Londrina: **IAPAR Boletim Técnico**, n. 58, 1998.

DRAKE, B.G.; GONZÁLEZ-MELER, M.A.; LONG, S.P. MORE EFFICIENT PLANTS: A Consequence of Rising Atmospheric CO<sub>2</sub>?, **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** v. 48, p. 609–639, 1997.

DURAND, J.L.; LEMAIRE, G.; GOSSE, G.; CHARTIER, M. Analyse de la conversion de l'énergie solaire en matière sèche par un peuplement de luzerne (*Medicago sativa* L.) soumis à un déficit hydrique. **Agronomie**, Paris, v.9, p. 599-607, 1989.

EASTBURN, D.M.; MCELDRONE, A.J.; BILGIN, D.D. Influence of atmospheric and climatic change on plant-pathogen interactions. **Plant Pathology**, v.60, p.54-69, 2011.

ELAD, Y.; PERTOT, I. Climate Change Impacts on Plant Pathogens and Plant Diseases, **Journal of Crop Improvement**, v. 28, n. 1, p. 99-139, 2014.

EMERAN, A. A.; SILLERO, J. C.; NIKS, R. E.; RUBIALES, D. Infection Structures of Host-Specialized Isolates of *Uromyces viciae-fabae* and of Other Species of *Uromyces* Infecting Leguminous Crops, **Plant Disease**, v. 89, n. 1, p. 17- 22, 2005.

ERICKSON, J.E.; PERESTA, G.; MONTOVAN, K. J.; DRAKE, B.G. Direct and indirect effects of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> on net ecosystem production in a Chesapeake Bay tidal wetland, **Global Change Biology**, v. 19, p.3368–3378, 2013.

EVANS, N.; BAIERL, A.; SEMENOV, M.A.; GLADDERS, P.; FITT, B.D.L. Range and severity of a plant disease increased by global warming, *Journal of the Royal Society Interface*, v. 5, p. 525–531, 2008.

FERREIRA, R. de P.; BOTREL, M. de A.; RUGGIERI, A.C.; PEREIRA, A.V.; COELHO, A.D.F.; LÉDO, F.J. da S.; CRUZ, C.D. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de alfafa em relação a diferentes épocas de corte. **Ciência Rural**, v.34, n.1, p. 265-269, 2004.

FERROCINO, I.; CHITARRA, W.; PUGLIESE, M.; GILARDI, G.; GULLINO, M.L.; GARIBALDI, A. Effect of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> and temperature on disease severity of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* on lettuce plants, **Applied Soil Ecology**, v. 72, p. 1-6, 2013.

GARRETT, K.A.; ZÚÑIGA, L.N.; RONCAL, E.; FORBES, G.A.; MUNDT, C.C.; SU, Z.; NELSON, R.J. Intraspecific functional diversity in hosts and its effect on disease risk across a climatic gradient. **Ecological Applications**, v. 19, p. 1868-1883, 2009.

GARRETT, K.A.; DENDY, S.P.; FRANK, E.E.; ROUSE, M.N.; TRAVERS, S.E. Climate change effects on plant disease: genomes to ecosystems. **Annu. Rev. Phytopathology**, v. 44, p. 489–509, 2006.

GHINI, R.; MAC LEOD, R.E. de O.; TORRE NETO, A.; CARDOSO, D.C.; BETTIOL, W.; MORAIS, L.A.S. de; VIQUE, B. Increased atmospheric carbon dioxide concentration: effects on eucalypt rust (*Puccinia psidii*), C:N ratio and essential oils in eucalypt clonal plantlets. *Forest Pathology*, 2014.

GHINI, R. **Mudanças climáticas globais e doença de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2005. 104 p.

GOMES, F.T.; BORGES, A.C.; NEVES, J.C.L.; FONTES, P.C.R. Nodulação, fixação de nitrogênio e produção de matéria seca de alfafa em resposta a doses de calcário, com diferentes relações cálcio: magnésio. **Ciência Rural**, v.32, n.6, p. 925-930, 2002.

GOSSE, G.; CHARTIER, M.; LEMAIRE, G.; GUY, P. Influence des facteurs climatiques sur la production de la luzerne. **Fourrages**, Versailles, v.90, p. 113-133, 1982.

GOULTER, K. C. Chickpea (*Cicer arietinum*), a new host for *Uromyces striatus*. **Australasian Plant Pathology**, v. 13, p. 58-60, 1984.

HARTMAN, C.L.; MCCOY, T.J.; KNOUS, T.R. Selection of alfalfa (*Medicago sativa*) cell lines and regeneration of plants resistant to the toxin(s) produced by *fusarium oxysporum* f. sp. *Medicaginis*, **Plant Science Letters**, v. 34, 183-194, 1984.

HEINEMANN, A.B.; PACIULLO, D.S.C.; LÉDO, F.J. da S.; PEREIRA, A.V.; BOTREL, M. de A.; REIS, F.A.; MOREIRA, P. Avaliação de cultivares de alfafa na região central do Estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, v. 7, n. 3, p. 257-263, 2006.

HENCE, T.; BAAREN, J.; VERNON, P.; BOIVIN, G. Impact of extreme temperatures on parasitoids in a climate change perspective. *Annual Review of Entomology*, v.52, p.107-126, 2007.

HIBBERD, J.M.; WHITBREAD, R.; FARRAR, J.F. Effect of elevated concentrations of CO<sub>2</sub> on infection of barley by *Erysiphe graminis*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 48, p. 37-53, 1996.

IAMAUTI, M.T.; SALGADO, C. L. DOENÇAS DA ALFAFA (*Medicago sativa*) In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. & REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia**, volume 2: Doenças das plantas cultivadas, Ed. Agronômica Ceres, São Paulo, cap. 5, p. 33-40, 1997.

IAC - INSTITUTO AGRONÔMICO. Boletim Técnico 100: Recomendações de Adubação e Calagem para o Estado de São Paulo. Campinas, SP. 1996. 285p.

IPCC Climate Change 2013: The Physical Science Basis (eds Stocker, T. F. et al.) (Cambridge Univ. Press, 2013).

JAYANEGARA, A.; TOGTOKHBAYAR, N.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Tannins determined by various methods as predictors of methane production reduction potential of plants by an in vitro rumen fermentation system. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 150, p. 230-237, 2009.

JWA, N.S; WALLING, L.L. Influence of elevated CO<sub>2</sub> concentration on disease development in tomato. **New Phytologist**, v. 149, n. 3, p. 509–518, 2002.

JULIATTI, F.C. et al. Resistência de cultivares de alfafa à antracnose e à mancha de *leptosphaerulina* em Uberlândia-MG, **Summa phytopathol**, v. 37, n.4, p. 169-173, 2011.

KEMEN, E.; HAHN, M.; MENDGEN, K.; STRUCK, C. Different resistance mechanisms of *Medicago truncatula* ecotypes against the rust fungus *Uromyces striatus*. **Phytopathology**, v. 95, p. 153-157, 2005.

LIPPER, L.; THORNTON, P.; CAMPBELL, B.M.; BAEDEKER, T. et al. Climate-smart agriculture for food security, **Nature Climate Change**, p. 1068–1072, 2014.

MADRID, E.; GIL, J.; RUBIALES, D.; KRAJINSKI, F.; SCHLERETH, A.; MILLAÑ, T. Transcription factor profiling leading to the identification of putative transcription factors involved in the *Medicago truncatula* – *Uromyces striatus* interaction, **Theor Appl Genet**, v. 121, p. 1311–1321, 2010.

MACHADO, M. A. de M.; MARENGO, J. A. Mudanças climáticas globais e seus efeitos sobre a agricultura brasileira. **News Letter GOF-UK-CPTEC**, São José dos Campos, v. 1, n. 2, p. 4-6, 2006.

MANNING, W.J.; TIEDEMANN, A.V. Climate change: Potential effects of increased atmospheric carbon dioxide (CO<sub>2</sub>), ozone (O<sub>3</sub>), and ultraviolet-B (UV-B) radiation on plant diseases, **Environmental Pollution**, v. 88, p.219-245, 1995.

MARENGO, J. A.; AMBRIZZI, T.; ROCHA, R. P.; ALVES, L. M.; CUADRA, S. V.; VALVERDE, M.; FERRAZ, S. E. T.; TORRES, R. R.; SANTOS, D. C. Future change of climate in South America in the late XXI century: intercomparison of scenarios from three regional climate models. **Climate Dynamics**, v. 35, p. 1073-1097, 2010.

MCELDRONE, A.J.; HAMILTON, J.G.; KRAFNICK, A.J.; ALDEA, M.; KNEPP, R.G.; DELUCIA, E.H. Combined effects of elevated CO<sub>2</sub> and natural climatic variation on leaf spot diseases of redbud and sweetgum trees. **Environmental Pollution**, v. 158, p.108-114, 2010.

McELRONE, A. J. et al. Elevated CO<sub>2</sub> reduces disease incidence and severity of a red maple fungal pathogen via changes in host physiology and leaf chemistry. **Global Change Biology**, Oxford, v. 11, p. 1828-1836. 2005.

MENEZES, M. Relações entre *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Atk.) Snyder. & Hansen e diferentes hospedeiros não suscetíveis. (Dissertação de Mestrado). Piracicaba, SP. ESALQ, Universidade de São Paulo. 1972

MITCHELL, C.E.; REICH, P.B.; TILMAN, D.; GROTH, J.V. Effects elevated CO<sub>2</sub>, nitrogen deposition, and decreased species diversity on foliar fungal plant disease, **Global Change Biology**, v. 9, p. 438-451, 2003.

MOREIRA, A.; FAGERIA, N.K. Liming influence on soil chemical properties, nutritional status and yield of alfalfa grown in acid soil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.34, n.4, p. 1231-1239, 2010.

NOZELLA, E.F. **Valor nutricional de espécies arbóreo-arbustivas nativas da caatinga e utilização de tratamentos físico-químicos para redução do teor de taninos**. 2006. 99f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP.

NUERNBERG, N.V., MILAN, P.A., SILVEIRA, C.A.M. Cultivo, manejo e utilização da alfafa. In: **Manual de produção de alfafa**: EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE SANTA CATARINA - EMPASC, p.15-56, 1990.

NUTTER, F. W.; GUAN, J.; GOTLIEB, A. R.; RHODES, L. H.; GRAU, C. R.; SULC, R. M. Quantifying alfalfa yield losses caused by foliar diseases in Iowa, Ohio, Wisconsin and Vermont, **Plant Disease**, v. 86, p.269-277, 2002.

OLIVEIRA, P.P.A.; CORSI, M.; DÍAZ, M.D.P. Efeito de fungicidas em tratamento de sementes de alfafa (*Medicago sativa*) e suas consequências sobre a emergência, sobrevivência e produção da forragem, **Revista Brasileira Zootecnia**, v.27, n.1, p.27-32, 1998.

PANGGA, I. B.; CHAKRABORTY, S.; YATES, D. Canopy size and induced resistance in *Stylosanthes scabra* determine anthracnose severity at high CO<sub>2</sub>. **Phytopathology**, v.4, p.221-227, 2004.

PENG, S.; HUANG, J.; SHEEHY, J.E.; LAZA, R.C.; VISPERAS, R.M.; ZHONG, X.; CENTENO, G.S.; KHUSH, G.S.; CASSMAN, K.G. Rice yield decline with higher night temperature from global warming. In REDONA, E.D.; CASTRO A.P.; LLANTO, G.P. eds. **Rice Integrated Crop Management: Towards a Rice Check system in the Philippines**, p. 46–56. Nueva Ecija, Philippines, PhilRice., 2004.

PEREIRA, R.C.; EVANGELISTA, A.R.; SOUZA, P.E. de; SILVA, A.C.; MUNIZ, J.A. Doenças Foliares da Alfafa (*Medicago sativa* L.), em Lavras, Minas Gerais. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.32, n.6, p.1287-1296, 2003.

POMPEU, C.F.F.; UCHOA, F.C.; NEIVA, J.N.M.; OLIVEIRA FILHO, G.S. de; PAULA NETO, F.L. de; SILVA, E.S. da; LOBO, R.N.B.; BOTREL, M. de A. Produção de matéria seca e qualidade de quatorze cultivares de alfafa (*Medicago sativa* L.) sob irrigação no Estado do Ceará Roberto **Revista Ciência Agronômica**, v. 34, n.2, p. 153 – 160, 2003.

POORTER, H. “Variação Interespecífica na resposta do crescimento a uma concentração elevado e ambiental do CO<sub>2</sub>,” **Vegetação**, p. 77-97, 1993.

POZZA, E.A.; SOUZA, P.E. Ocorrência de doenças em alfafa (*Medicago sativa* L.) na região de Lavras - MG. **Ciência e Prática**, v.18, n.2, p.186-188, 1994.

PRITCHARD, S.G.; AMTHOR, J.S. Crops and environmental change. Binghamton UK. Food **Products Press**, 2005.

QUEIROZ, D. S.; GOMIDE, J. A.; MARIA, J. Avaliação da folha e colmo de topo e base de perfilho de três gramíneas forrageiras. 1. Digestibilidade “*in vitro*” e composição química. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.20, n.1, p.53-60, 2000.

RASSINI, J. B.; FERREIRA, R. P.; MOREIRA, A.; TUPY, O.; MENDONÇA, F. C.; BERNARDI, A. C. C. **Cultivo da alfafa**. 2. ed. Brasília: Embrapa Pecuária Sudeste, Sistema de Produção, 2007.

RASSINI, J.B.; FERREIRA, R. de P.; MOREIRA, A. Recomendações para o cultivo de alfafa na região Sudeste do Brasil São Carlos, SP. **Circular Técnica 46**, 2006.

RASSINI, J.B, Manejo da água na irrigação da alfafa num Latossolo Vermelho-Amarelo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 37, n. 4, p. 503-507, 2002.

REDDY, P. P. Impacts on Plant Pathogens. In: REDDY, P.P. Climate Resilient Agriculture for Ensuring Food Security, **Springer**, India, p. 151-177, 2015.

ROSSANIGO, R.; MENEGHETTI, F.B. **Alfalfa**. Marcos Juarez: Estación Experimental Agropecuária Marcos Juarez. Projeto: Alternativas Melhoradas Conservacionistas de Producción Agrícola Ganadera em el Sur de Córdoba, 1991.

RUBIALES D.; EMERAN, A.A.; SILLERO, J.C. Rusts on legumes in Europe and North Africa. **Grain Legumes**, v. 37, p. 8–9, 2002.

RUBIALES, D.; MORAL, A. Prehaustorial resistance against alfalfa rust (*Uromyces striatus*) in *Medicago truncatula*, **European Journal Plant Pathology**, v. 110, p. 239-243, 2004.

RUNION, G. B.; PRIOR, S. A.; ROGERS, H. H.; MITCHELL, R. J. Effects of Elevated Atmospheric CO<sub>2</sub> on Two Southern Forest Diseases. **New Forests**, v.39, p.275-285, 2010.

SAMAC, D. Alfalfa improvement through selection for disease resistance, tissue culture, and genetic transformation. In: WHORKSHOP SOBRE POTENCIAL FORRAGEIRO DA ALFAFA (*Medicago sativa* L.) NOS TRÓPICOS, 1994, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: EMBRAPA - CNPGL, 1994, p. 37-45.

SANTOS, M. de S. dos; GHINI, R.; FERNANDES, B.V.; SILVA, C.A. Increased carbon dioxide concentration in the air reduces the severity of Ceratocystis wilt in Eucalyptus clonal plantlets. **Australasian Plant Pathology**, v.42, p.595-599, 2013.

SANTOS, I.A. dos.; NOGUEIRA, L.A.H. Estudo energético do esterco bovino: seu valor de substituição e impacto da biodigestão anaeróbia. **Revista Agroambiental**, p. 41-49, 2012.

SIQUEIRA, O.J.W.; STEINMETZ, S.; SALLES, L.A.B. de. Efeitos potenciais das mudanças climáticas na agricultura brasileira e estratégias adaptativas para algumas culturas. In: LIMA, M.A.; CABRAL, O.M.R.; MIGUEZ, J.D.G. Mudanças climáticas globais e a agropecuária brasileira. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, p.33-63, 2001.

SKINNER, D.Z.; STUTEVILLE, D.L. Host range expansion of the alfalfa rust pathogen, **Plant Disease**, v. 79, p. 456–460, 1995.

STURROCK, R. N.; FRANKELB, S. J.; BROWN, A.V.; HENNOND, P.E.; KLIEJUNAS, J. T.; LEWIS, K. J.; WORRALL, J. J.; WOOD, A.J. Climate change and forest diseases, **Plant Pathology**, v. 60, p. 133–149, 2011.

SILVA, C.E.O. da; GHINI, R. Plant growth and leaf-spot severity on eucalypt at different CO<sub>2</sub> concentrations in the air. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 49, n. 3, 2014.

SILVA, S.R., RIOS, G.P. e SILVA, S.C. Influência da resistência e do período de molhamento na infecção e desenvolvimento de lesões de ferrugem no feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p.726-731. 2001.

SCHUMMANN G. L.; D' ARCY C. J. Essential plant pathology. St. Paul: APS Press. 338p. 2006.

TEIXEIRA, D. A.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G.; MAFFIA, L. A.; FERREIRA, E. M. Evidências de indução de resistência sistêmica à ferrugem do eucalipto mediada por rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. **Fitopatologia brasileira**, v.30, p.350-356, 2005.

THAL, W.M.; CAMPBELL, C.L. Sampling procedures for determining severity of alfalfa leaf spot diseases. **Phytopathology**, v.77, n.2, p.157-162, 1987.

TORRE NETO, A.; GHINI, R. **Rede de sensores sem fio para monitoramento e controle de processos em ambiente agrícola**. In: INAMASU, R. Y.; NAIME, J. de M.; RESENDE, Á. V. de.; BASSOI, L. H.; BERNARDI, A. C. de C. (Ed.). Agricultura de precisão: um novo olhar. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação, 2011. p. 115-119.

VIANA, M.C.M.; PURCINO, H.M.A.; KONZEN, E.A.; BOTREL, M. de A.; GIANASI, L.; MASCARENHAS, M.H.T.; FREIRE, F.M. Avaliação de cultivares de alfafa nas condições de Cerrado no Estado de Minas Gerais. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.39, n.3, p.289-292, 2004.

VILELA, D.. Potencialidade da alfafa na região Sudeste do Brasil. **Informativo. Agropecuário**, v.16, n.175, p. 50-53, 1992.

WEBB, D. H.; NUTTER Jr, F.W.. Effects of leaf wetness duration and temperature on infection efficiency, latent period, and rate of pustule appearance of rust in alfalfa. **Phytopathology**, v. 87, p. 946-950, 1997.



WITTIG, V.E.; AINSWORTH, E.A.; NAIDU, S.L.; KARNOSKY, D.F.; LONG, S.P. Quantifying the impact of current and future tropospheric ozone on tree biomass, growth, physiology and biochemistry: a quantitative meta-analysis of the ozone literature. **Global Change Biology**, v. 15, p. 396–424, 2009.