UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

SELEÇÃO DE ALFAFA (*Medicago sativa* L.) PARA TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO E APTIDÃO AO PASTEJO

KARLA MÉDICI SARAIVA
Engenheira Agrônoma (URCAMP)

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de Mestre em Zootecnia
Área de Concentração Plantas Forrageiras

Porto Alegre (RS), Brasil
Março, 2011

SARAIVA, M., KARLA
SELEÇÃO DE ALFAFA (Medicago sativa L.) PARA TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO E APTIDÃO AO PASTEJO / KARLA SARAIVA, M.. -- 2011.
121 f.

Orientador: Miguel DallAgnol.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2011.

1. alfafa. 2. seleção. 3. pastejo. 4. alumínio. I. DallAgnol, Miguel, orient. II. Título.

KARLA MÉDICI SARAIVA
Engenheira Agrônoma

DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM ZOOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 28.02.2011
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 0**6.06.2011**
Por

MIGUEL DALL'AGNOL
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientador

CARLOS NABINGER
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia

CARLOS NABINGER
PPG Zootecnia/UFRGS

LÚCIA B. FRANKE
PPG Zootecnia/UFRGS

CARLOS ALBERTO BISSANI
PPG Ciência do Solo/UFRGS

PEDRO ALBERTO SELBACH
DIRETOR DA FACULDADE DE
AGRONOMIA

Aos meus pais, KATIA e RICARDO, meus grandes exemplos.

As minhas queridas irmãs Paula e Fernanda, minhas verdadeiras amigas

Dedico

Agradecimentos

A Deus por me dar a vida e o privilégio de concluir mais um dos meus objetivos.

Aos meus país e irmãs pelo amor, apoio e por sempre me incentivarem em todos os momentos da minha vida. A todos os meus familiares que mesmo de longe me apoiaram.

A todos os professores do curso de Pós-Graduação, principalmente ao meu orientador Professor Miguel Dall'Agnol pela orientação, amizade e empenho em transmitir seus conhecimentos.

Ao Dr. Naylor Bastiani Perez pelo incentivo e ajuda.

Aos meus colegas Aline, Armando, Emerson, Juliana F., Juliana M., Marcelo, Raquel, Roberto, Thiago e Vilmar pela amizade, parceria e grande ajuda em todas as etapas deste trabalho, desde o campo até as análises estatísticas.

Aos queridos bolsistas Ana Paula, Carlos, Gabriela, Felipe, Lívia e Mêmora que não mediram esforços em ajudar e por tornarem nosso trabalho ainda mais divertido.

A minha grande amiga Rafaela pela amizade e motivação nos momentos difíceis longe de casa.

Ao meu namorado Alexandre pelo amor e companheirismo.

A Capes pela concessão da bolsa.

A todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

SELEÇÃO DE ALFAFA (*Medicago sativa* L.) PARA TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO E APTIDÃO AO PASTEJO[1]

Autora: Karla Médici Saraiva
Orientador: Miguel Dall'Agnol

RESUMO

A alfafa (*Medicago sativa* L.) é uma leguminosa com alto potencial produtivo, qualidade de forragem e flexibilidade de utilização. Quando bem manejada, é uma cultura capaz de fornecer forragem de qualidade e promover um aumento na produtividade dos rebanhos. Para a maior expansão desta forrageira no Brasil, torna-se necessário superar alguns entraves, como a falta de cultivares adaptadas às nossas condições de solo, baixa fertilidade do solo e inexistência de cultivares melhor adaptadas ao pastejo. O melhoramento genético de alfafa para tolerância a solos ácidos e aptidão ao pastejo, pode ser uma alternativa importante para a maior utilização desta cultura, contribuindo para a produção de carne e leite no país. O presente estudo tem como objetivo a seleção precoce de genótipos de alfafa para tolerância ao alumínio (Al) e aptidão ao pastejo e para isso, foram realizados dois experimentos. No experimento de seleção de plantas para tolerância ao Al tóxico foram avaliados nove genótipos (Crioula como testemunha, ECF_1, Solo, Solução, Erechim, POA, Estrela e SJI) em solução nutritiva contendo diferentes concentrações de Al (0,0; 3,0; 6,0; 12; 24; 48 µMol/L $AlCL_3$). O comprimento radicular (CR) foi mensurado, sendo selecionadas as 25 plântulas que apresentavam o maior comprimento de radicular. Foi realizado mais um ciclo de seleção e os resultados mostraram superioridade do crescimento radicular das populações SJI, Solução e POA, indicando uma maior tolerância ao Al tóxico. Já no experimento de seleção para aptidão ao pastejo, foram avaliados oito genótipos (ABT como testemunha, Erechim, POA, SJI, Estrela e as populações que já participam do Programa de Melhoramento da UFRGS para aptidão ao pastejo: E_1C_2, E_1C_3, E_2C_2 e E_2C_3. Foram utilizados os marcadores morfológicos comprimento do 1º e 2º entrenós (cm). Foram selecionadas as 25 plântulas, de cada população, que apresentaram o menor comprimento do 1º e do 2º entrenó, totalizando 50 plantas. Os genótipos SJI e as populações que já participam do programa de Melhoramento Genético da UFRGS apresentaram comportamento bastante semelhante à testemunha ABT, mostrando possuir maior aptidão ao pastejo. Além disso, o marcador morfológico do comprimento do 1º entrenó mostrou-se mais eficiente na seleção dos genótipos para aptidão ao pastejo. Portanto, os resultados mostraram que é possível obter-se progresso tanto na seleção para aptidão ao pastejo quanto para tolerância ao Al.

---

[1] Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Plantas forrageiras, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (121p.). Março de 2011.

SELECTION DE ALFALFA (*Medicago sativa* L.) TOLERANT TO ALUMINUM AND TO GRANZING APTITUDE [1]

Author: Karla Médici Saraiva
Adviser: Miguel Dall' Agnol

ABSTRACT

The alfalfa (*Medicago sativa* L.) is a legume that has many relevant characteristics such as high yield potential and forage quality and flexibility of use, and that when properly managed, a culture able to provide quality forage and promote an increase in the quality of herds. For the further expansion of this forage in Brazil, it is necessary to overcome certain obstacles such as lack of cultivars adapted to our climate and soil conditions, low soil fertility and inadequate management. Genetic improvement of alfalfa for tolerance to acid soils and suitability to grazing can be an important alternative for the development and establishment of this culture, contributing to the production of meat and milk in the country. The present study aims at the early selection of alfalfa genotypes for tolerance to aluminum (Al) and to grazing aptitude. For this, two experiments were conducted. In the experiment for selecting plants for Al tolerance were evaluated nine genotypes (Crioula as witness, ECF_1, Soil, and Solution Erechim, POA, Estrela and SJI) in a nutrient solution containing different concentrations of Al (0.0, 3.0 , 6.0, 12, 24, 48 µMol / L $AlCl_3$). Root length was measured, and selected twenty-five seedlings that had the greatest root length. There was one more cycle of selection and the results showed the superiority of root growth of populations SJI, Solution, and POA, indicating a higher tolerance to Al toxicity. In the experiment to select for grazing aptitude, were assessed eight genotypes (ABT as a check, Erechim, POA, SJI, Star, and the populations already on the Plant Breeding Program for grazing aptitude, UFRGS, (E_1C_2, E_1C_3, E_2C_2 and E_2C_3). The morphological markers used were the length of 1st and 2nd internode (cm). Were selected 25 seedlings from each population, which had the shortest length of 1st and 2nd internode, totaling fifty plants. The genotype SJI and the populations that already participate in the Plant Breeding Program behaved very similar to the witness (ABT), showing that have a higher grazing aptitude. In addition, the morphological marker of the 1st internode length was more efficient in the selection of genotypes for grazing aptitude. Therefore, the results showed that it is possible to make progress for grazing aptitude as well as for Al tolerance.

---

[1] Master of Science dissertation in Forage Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil (121p.). March, 2011.

SUMÁRIO

Página

1. INTRODUÇÃO 12

2.1 Alfafa (*Medicago sativa* L.) 15

2.1.1 Características biológicas e morfológicas da alfafa 17

2.1.2 Produtividade e utilização 19

2.1.3 Problemáticas do desenvolvimento da alfafa no Brasil 22

2.1.4 Os solos ácidos 24

2.2 Melhoramento genético de alfafa 34

2.2.1 Melhoramento de alfafa para tolerância a solos ácidos 36

2.2.2 Melhoramento de alfafa para pastejo 42

3.1 Caracterização e seleção de alfafa em solução nutritiva para tolerância ao alumínio. 49

3.1.1 Local do experimento 49

3.1.2 Material vegetal utilizado 49

3.1.3 Condução do experimento 50

3.1.3.1 Caracterização de populações de alfafa em solução nutritiva com diferentes concentrações de alumínio. 50

3.1.3.2 Seleção em solução nutritiva 52

3.2 Caracterização e seleção precoce de alfafa para tolerância ao pastejo através de marcadores morfológicos 54

3.2.1 Local 54

3.2.2 Material vegetal utilizado 54

3.2.3 Condução do experimento 55

3.2.3.1 Caracterização das populações utilizadas 55

4.1 Caracterização de populações de alfafa em solução nutritiva com diferentes concentrações de alumínio 58

4.1.1 Seleção em solução nutritiva 64

4.2 Caracterização e seleção precoce de alfafa para aptidão ao pastejo através de marcadores morfológicos 67

5. CONCLUSÕES 81

6. REFERÊCIAS BIBLIOGRÁFICAS 82

7. APÊNDICES 95

8. VITA 121

RELAÇÃO DE TABELAS

Página

1 - Comprimento radicular (cm) de populações de alfafa (*Medicago sativa* L.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio (µMol/L) em solução nutritiva. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2011. 59

2 - Variação média do comprimento do 1º e 2º entrenó de plântulas de alfafa para seleção de tolerância ao pastejo. 68

3 - Comprimento médio do 1º e 2º entrenó das 25 plântulas de nove populações de alfafa selecionadas para aptidão ao pastejo. Porto Alegre, UFRGS, 2011. 79

RELAÇÃO DE FIGURAS

Página

1 - Transferência das plântulas das caixas gerbox para as placas de isopor (A); sistema radicular (B); disposição do experimento (C e D). 51

2 - Plantas de alfafa (*Medicago sativa* L.) em casa-de-vegetação (A); início do florescimento (B); inflorescência (C); polinização (D). 54

3 - Localização dos 1º e 2º entrenó. 56

4 - Comprimento radicular de três populações selecionada para tolerância ao Al em dois ciclos de seleção, sob a concentração de 8 µMol/L de Al em solução nutritiva. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2011. 66

5- Distribuição do número de plântulas em relação ao comprimento do 1º entrenó das populações que já participam do programa de melhoramentoda UFRGS (EC_2C_3, EC_2C_2, EC_1C_2, EC_1C_3) e testemunha (ABT-805). UFRGS, Porto Alegre, RS, 2011. 72

6 - Distribuição do número de plantas em relação ao comprimento do 2º entrenó das populações Crioulas (Estrela, Erechim, Poa e SJI) e a testemunha cv. ABT-805. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2011. 74

7 - Distribuição do número de plântulas em relação ao comprimento do 2º entrenó das populações que já participam do programa de melhoramentoda UFRGS (EC2C3, EC2C2, EC1C2, EC1C3) e testemunha (ABT-805). UFRGS, Porto Alegre, RS, 2011. 76

8 - Distribuição do número de plantas em relação ao comprimento do 2º entrenó das populações Crioulas (Estrela, Erechim, Poa e SJI) e a testemunha cv. ABT-805. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2011. 77

RELAÇÃO DE ABREVIATURAS

Al.....	Alumínio
CR.....	comprimento radicular
cv.....	Cultivar
T.....	Testemunha
EC.....	Entrenó curto
EC_1.....	1º Entrenó curto
EC_2.....	2º Entrenó curto
EC_1C_2.....	População selecionada pelo comprimento do 1º entrenó curto, com 2 ciclo de seleção
EC_1C_3.....	População selecionada pelo comprimento do 1º entrenó curto, com 3 ciclo de seleção hábito de crescimento
EC_2C_2.....	População selecionada pelo comprimento do 2º entrenó curto, com 2 ciclo de seleção
EC_2C_3.....	População selecionada pelo comprimento do 2º entrenó curto, com 3 ciclo de seleção
RENACAL....	Rede Nacional de Avaliação de Cultivares de Alfafa
MS.....	Matéria Seca
MST.....	matéria seca total
ha.....	Hectares
RS.....	Rio Grande do Sul
UFRGS.....	Universidade Federal do Rio Grande do Sul

1. INTRODUÇÃO

A demanda de informações relativas à produção de forragem de qualidade vem sendo intensificada não apenas no estado do Rio Grande do Sul, mas também em toda a América do Sul, onde a alimentação dos rebanhos depende basicamente das pastagens. O uso de leguminosas forrageiras pode melhorar o valor nutricional e a produtividade das pastagens, refletindo assim em maiores índices no desempenho animal. Dentre as leguminosas, a alfafa (*Medicago sativa* L.) possui inúmeras características relevantes, como alto potencial produtivo, qualidade de forragem e flexibilidade de utilização e; quando bem manejada, é uma cultura capaz de fornecer forragem de qualidade e promover o aumento na produtividade dos rebanhos. A sua utilização poderia ainda, contribuir para um incremento nos índices produtivos e no aumento da lucratividade do setor primário. Entretanto, um dos fatores limitantes para o desenvolvimento dessa cultura no Brasil é a exigência desta espécie em termos de fertilidade do solo, exigindo investimentos na correção da acidez e adubação para minimizar os efeitos do alumínio tóxico (Al^{+3}) e a baixa disponibilidade de nutrientes, especialmente do fósforo. Os solos brasileiros são predominantemente ácidos e com baixa disponibilidade de fósforo, o que limita grandemente o desenvolvimento dessa cultura no país (Bahia Filho et al., 1997).

A solução deste problema pode ser dirigida, com o aumento do pH no solo pela calagem, mas essa atividade tem altos custos. Para minimizar esse problema, a pesquisa tem procurado alternativas, tais como a seleção de plantas mais tolerantes ao Al. O uso de plantas tolerantes pode baratear os custos de implantação e contribuir para o expansão dessa cultura no Brasil.

Outro entrave na expansão da cultura da alfafa é a baixa persistência dos genótipos quando utilizada sob pastejo. O pastejo é a forma de alimentação animal mais barata quando comparada com o feno ou a silagem. No caso específico da alfafa, as técnicas de manejo foram desenvolvidas de modo a adaptar ao pastejo plantas historicamente selecionadas para a utilização sob cortes. Por esse motivo, a sua utilização tem ocorrido quase que exclusivamente sob regime de pastejo rotativo, procurando imitar o manejo sob cortes (Hoveland, 1994). Contudo, a introdução de outros fatores de estresse, como pisoteio, compactação do solo e pastejo seletivo, tende a diminuir o crescimento e a persistência das pastagens de alfafa (Romero et al., 1995), sendo que a sua persistência é grandemente afetada por interações entre o hábito de crescimento e as práticas de manejo.

Uma alternativa para este problema é a criação de cultivares de alfafa com aptidão ao pastejo. No Brasil, os estudos com o objetivo de selecionar alfafa tipo pastejo são recentes, mas há informações de que na alfafa Crioula existe variabilidade genética para o hábito de crescimento que pode ser perceptível ainda no estágio de plântula, através da utilização de marcadores morfológicos. Além disso, esses marcadores morfológicos são fáceis de se identificar, herdáveis e poderiam ser utilizados na seleção de

genótipos tolerantes ao pastejo. Nesse caso, a identificação de marcadores morfológicos em estágio precoce de desenvolvimento da planta, poderia acelerar o processo de melhoramento genético reduzindo os custos.

O objetivo deste trabalho foi selecionar populações de alfafa para tolerância a solos ácidos; utilizando-se solução nutritiva, visando à obtenção de genótipos tolerantes ao Al. Além disso, esse trabalho também procurou selecionar genótipos de alfafa com maior aptidão ao pastejo pela utilização de marcadores morfológicos no estágio de plântula.

2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Alfafa *(Medicago sativa L.)*

A alfafa é considerada a primeira planta forrageira a ser domesticada (Giaveno, 1996). É originária de regiões próximas ao Irã, áreas de invernos frios e verões quentes e secos, cujos solos são, em geral, bem drenados, próximos a neutralidade em termos de pH e com subsolo calcário (Michaud et al., 1988). No Brasil, os primeiros registros da cultura da alfafa foram em 1850, quando foi introduzida no Rio Grande do Sul através do Uruguai e Argentina. Os primeiros relatos da ocorrência desta cultura no estado, foram a partir dos vales dos rios Caí, Taquarí, Jacuí, Uruguai e nas encostas da Serra do Nordeste (Saibro, 1985; Neuernberg, 1986).

A área cultivada no mundo é difícil de ser estimada, em função da falta de informações atualizadas dos países produtores. No entanto, Frame et al. (1998) estimaram-na em mais de 30 milhões de hectares, sendo que cerca de 70% dessa área localizava-se nos Estados Unidos e Argentina. O segundo maior produtor mundial de alfafa é a Argentina com mais de cinco milhões de hectares, seguido pelo Canadá com 2,5 milhões de hectares, Itália e China, com aproximadamente um milhão de hectares.

Na década de oitenta, a área de alfafa no Brasil era de 26 mil hectares, sendo que 80% dessa área estava localizada no estado do Rio

Grande do Sul (Saibro, 1985). Informações mais atualizadas sobre a área de cultura de alfafa, no Brasil, são bastante escassas e muitas vezes conflitantes. Os principais estados brasileiros produtores de alfafa são Paraná e Rio Grande do Sul, sendo que neste último estado a área cultivada com a alfafa atualmente abrange menos de quatro mil hectares, embora estando presente em 19% dos municípios (Freitas et al., 2009).

Considerada uma das mais importantes forrageiras cultivadas no mundo, a alfafa possui inúmeras características relevantes, como grande aptidão agronômica, efetividade na fixação de nitrogênio atmosférico, eficiência energética de crescimento, elevada qualidade nutricional (proteínas, energia, vitaminas e minerais), elevada produção de biomassa (Barnes et al., 1988, Botrel et al., 2001; Ferreira 2005; Rassini et al., 2007). Além disso, é uma espécie bastante versátil quanto às possibilidades de utilização, podendo ser disponibilizada para alimentação animal na forma de feno, silagem, “pellets” desidratados, forragem verde e sob pastejo (Barnes & Sheaffer, 1995). A alfafa se adapta melhor a solos profundos, bem drenados, ligeiramente alcalinos e de alta fertilidade (Melton et al., 1988).

No Brasil, a alfafa Crioula é considerada o material disponível melhor adaptado e mais utilizado. A RENACAL (Rede Nacional de Avaliação de Cultivares de Alfafa) realizou testes com diversas cultivares de alfafa disponíveis, principalmente importadas, e evidenciou que, embora existam materiais que possuam bons índices relacionados à produtividade, os problemas em relação à persistência continuam. Além disso, resultados de experimentos conduzidos em vários locais demonstraram que a alfafa Crioula

ou materiais derivados dela estão sempre entre os de melhor desempenho para a produção de forragem (Botrel et al., 2001; Ferreira et al., 1999; Oliveira et al., 2004).

2.1.1 Características biológicas e morfológicas da alfafa

A alfafa é uma leguminosa herbácea perene, pertence ao gênero *Medicago* que compreende várias espécies que apresentam diferentes níveis de ploidia, embora a espécie *sativa* seja tetraplóide 2n=4x=32 (Queiroz & Bauchan, 1988). Além disso, a alfafa é uma espécie polimórfica, com espécies diplóides e tetraplóides. O seu número básico de cromossomos é igual a oito. Por se tratar de uma espécie autotetraplóide, a herança dos caracteres em alfafa é complexa (Viands et al., 1988). Apresenta reprodução predominantemente alógama, favorecida por mecanismos naturais de auto-incompatibilidade e de auto-esterilidade (Viands et al., 1988). Em condições naturais, a polinização é entomófila, pois a sua produção de néctar faz com que se torne atrativa para ação de abelhas. Os principais polinizadores da alfafa são as abelhas e os besouros (Rodrigues & Eroles, 2008-b).

As sementes da alfafa são arredondada de coloração amarelada, porém podem ser encontradas sementes de forma angular e de coloração que varia desde o verde-oliva a diferentes tonalidades de marrom; quando maduras apresentam 1 mm a 2 mm de comprimento, 1 mm a 2 mm de largura e 1 mm de espessura (Rodrigues & Eroles, 2008-a).

Após a emissão dos cotilédones, a primeira folha da planta é unifoliolada, já a segunda e as subseqüentes são trifolioladas (verdadeiras) dispostas de forma alternada na haste da planta. Os folíolos normalmente

apresentam-se na forma ovalada, arrendontada e lineares (Teuber & Brick, 1998). A plântula apresenta crescimento contrátil, resultado do engrossamento do hipocótilo e da parte superior da radícula. O sistema radicular pode ser classificado em quatro tipos gerais: pivotante, ramificado, rizomatoso e rasteiro (Golplen et al., 1980; Heinrichs, 1968). Em cultivares sem repouso hibernal, na maioria das vezes, se observa a presença de uma raiz pivotante sem muitas ramificações. As cultivares com repouso hibernal, por outro lado, costumam apresentar alto número de raízes secundárias. Em cultivares com acentuado repouso hibernal; as raízes laterais possuem gemas das quais se originam hastes que, ao emergirem do solo, formam novas brotações. Quando as gemas ativas são somente uma ou duas, as brotações se desenvolvem a pouca distância da planta original e essas raízes denominam-se rizomatosas; ao contrário, se as gemas ativas são várias e as brotações cobrem uma extensão de certa magnitude, essa raiz se denomina rasteira (Rodrigues & Eroles, 2008-a).

As hastes apresentam um conjunto de fitômeros de onde partem as folhas, mas o número de hastes depende da idade e do vigor da planta e o seu crescimento é induzido pelo tipo de utilização da planta (corte ou pastejo) ou novo ciclo fisiológico de crescimento (Alfafa, 2005). Possui uma coroa que se origina a partir do crescimento contrátil do hipocótilo (Barnes & Sheaffer, 1995). Além de sua função morfológica, é importante ressaltar a sua importância funcional como estrutura de armazenamento de substâncias de reserva e local de gemas com base nas quais se produzirão novas brotações da planta (Rodrigues & Eroles, 2008). A flor da alfafa é completa e está formada pelo

cálice, pela corola, pelos estames e pelo gineceu (Dal Pozo Ibañez, 1977).

O hábito de crescimento da alfafa é tipicamente ereto, mas com os avanços dos trabalhos de melhoramento, visando tipos mais resistentes ao pastejo contínuo, tem-se obtido plantas com hábitos variados. A alfafa “tipo feno” tem hábito de crescimento ereto e geralmente mostra alta produção de forragem; já as cultivares “tipo-pastejo” em geral possuem hábito de crescimento decumbente e menor potencial de produção de forragem (Smith et al., 1989), quando utilizadas para a produção de feno.

Nos estudos de Piano et al. (1996), com uma coleção de germoplasmas de alfafa selecionados para utilização em pastejo, foram descritos sete modelos morfológicos. O hábito de crescimento variou de prostrado, procumbente, ereto a semi-ereto, com diferentes densidades de caules, sistemas de raízes mais ou menos superficiais.

Segundo Perez (2003); a alfafa Crioula apresenta hábito de crescimento ereto, característico de um tipo morfológico para fenação. Entretanto possui variações de tipo de planta para características associadas á persistência da planta sob pastejo (Fávero, 2006) e, por não apresentar dormência, consegue produzir forragem de alta qualidade em períodos críticos onde as pastagens naturais e cultivadas apresentam pouco ou nenhum crescimento.

2.1.2 Produtividade e utilização

O potencial de produção da alfafa no Brasil é acima de 25 t MS/ha/ano (Ferragine et al, 2004; Oliveira, 1986; Saibro et al, 1972). No Rio Grande do Sul a produtividade média é de 10 t MS de feno/ha/ano (Mittelnann

et al., 2008). Em relação ao desempenho animal, segundo Bates et al. (1996), podem ser obtidos ganhos de peso médio de 880 g/cabeça/dia com bovinos de corte. No que diz respeito a leite, a produtividade está ao redor de 20 a 25 kg de leite/vaca/dia, sem a utilização de concentrados (Vilela, 1994).

O National Agricultural Statistics Service realizou no ano de 2000 uma análise do desempenho da alfafa em relação à produtividade e foi observado que as cultivares lançadas atualmente estão superando as cultivares mais antigas, às vezes em até 30% a 40% a mais em rendimento. Outro exemplo da produtividade desta cultura pode ser visto nas estatísticas de produção global. Embora nos EUA, entre os anos 1969 e 1999, a área cultivada com alfafa tenha caído de 10.787.000 para 9.713.000 ha, o rendimento anual por hectare aumentou de 2.545 para 3.125 $kg.ha^{-1}$, permitindo assim um aumento de 68.826.000 para 76.119.000 t na produção total. Este aumento da produção é atribuído ao uso de cultivares melhoradas, juntamente com a utilização de manejo adequado nos sistemas de produção (Bouton, 2001). A alfafa, no Brasil, quando bem manejada, possibilita a produção de um material de excelente qualidade, com até onze cortes por ano, no mínimo cinco cortes a mais que nos países de clima temperado (Moreira, 2007).

Devido às condições excelentes de clima e a possibilidade de produção superior a dos países que possuem as maiores produções, a perspectiva para o cultivo da alfafa no Brasil é muito grande, apesar das tímidas iniciativas ocorridas até o presente momento e praticamente restritas à fenação. A alfafa utilizada sob forma de pastejo tem seu custo reduzido em 50% quando

comparada à fenação e pode ser uma alternativa para reduzir os custos da alimentação dos bovinos, em razão da economia com fertilizantes nitrogenados, da diminuição do uso de alimentos concentrados e da contribuição para o aumento da produção de forragem na época seca do ano, dada sua baixa estacionalidade (Passos, 1994).

A produção possível de ser obtida com animais pode ser bem alta quando o pastejo é limitado à parte superior do dossel. Entretanto, o desempenho cai drasticamente quando os animais são forçados a consumir a camada inferior, que apresenta menor qualidade (Dougherty, 1998).

Frame et al. (1998) destacaram que o declínio progressivo da produção da alfafa ao longo dos anos pode ser atribuído à competição com invasoras, ataque de pragas, drenagem inadequada, super pastejo e cortes muito freqüentes.

Técnicas de manejo para a utilização da alfafa sob pastejo foram desenvolvidas de modo a adaptar o pastejo às características da planta, historicamente selecionada para a utilização sob cortes. Em estandes de alfafa sob lotação contínua, podem ocorrer perdas de 46% a 85%, ao passo que, sob lotação rotativa, as perdas são reduzidas, ficando entre 32% a 64% (Counce et al., 1984).

Mesmo com técnicas de manejo mais adequadas para utilização da alfafa sob pastejo ou seja adaptando ao pastejo as características da planta, perdas expressivas ainda acontecem (Counce et al., 1984). Trabalhos tem mostrado que plantas de alfafa adaptadas ao pastejo possuem características morfológicas diferentes das plantas tipo feno (Bouton, 1999). No entanto, existe

a necessidade de se adaptar a estrutura das plantas de acordo com a forma de utilização (corte ou pastejo).

2.1.3 Problemáticas do desenvolvimento da alfafa no Brasil

As maiores dificuldades para a expansão do uso da alfafa no Brasil estão associadas à falta de conhecimento sobre seu manejo nas variadas formas de utilização, baixa fertilidade do solo (Paim, 1994) e à escassez de cultivares adaptadas às diferentes regiões do país (Lédo et al., 2002).

Existem relatos na literatura que reportam raízes de alfafa a grandes profundidades, o que não se observa nos solos brasileiros, devido à presença de alumínio em níveis tóxico em horizontes abaixo da camada arável. Portanto, o potencial genético de desenvolvimento das raízes não pode ser explorado devido à presença de alumínio, pois a alfafa possui alta sensibilidade à acidez do solo, o que eleva grandemente a necessidade de correção no momento da implantação desta cultura e, conseqüentemente, a elevação dos custos, sendo este um dos fatores da pouca produção de alfafa no país (Bohnen *et al*., 2006). A solução para esse problema pode ser dirigida para o aumento do pH, evitando assim a ocorrência de espécies tóxicas de Al e disponibilizando nutrientes. Esta medida é a mais empregada e a técnica mais viável usada é a aplicação de calcário. Entretanto, seu uso pode ser limitado pelo custo do produto, do transporte e da aplicação, e também pela dificuldade de se corrigir horizontes mais profundos, devido a pouca mobilidade do calcário no solo. Tanto mais problemático se torna quanto mais sensível é a planta, como é o exemplo da alfafa, que exige maiores quantidades de corretivos.

Para evitar problemas como esses, a pesquisa tem procurado

alternativas, como a seleção de plantas mais tolerantes a solos ácidos. O uso de plantas tolerantes pode baixar os custos de implantação da cultura, bem como diminuir os custos de manutenção e aumentar sua persistência, quando perenes. Além disso, devido ao sistema radicular profundo, essas plantas são também mais tolerantes a estresses hídricos, possibilitando um aproveitamento ainda maior da cultura implantada, contribuindo para o aproveitamento e ciclagem de nutrientes.

Outro empecilho no aumento do número de alfafais no Rio Grande do Sul e também em outros estados brasileiros é a baixa persistência da cultura da alfafa, que tem sido a sua maior limitação quando utilizada sob pastejo. A falta de persistência da alfafa, sob pastejo, levou à seleção de plantas sob lotação contínua, como método para melhor identificar materiais persistentes, por oferecer as situações de estresses comuns no campo, ou seja pisoteio, tração, excreções e desfolhações quase diárias. Através desse procedimento obteve-se a cv. Alfagraze, de hábito semi-ereto ou decumbente e ampla formação de hastes basilares (Smith et al., 1989).

A persistência da alfafa é grandemente afetada por interações entre o hábito de crescimento e as práticas de manejo, sendo que a baixa persistência poderia estar também ligada, em parte a doenças foliares, da raiz ou da coroa (Beuselinck et al., 1994). Entre os fatores que contribuem para a baixa persistência de algumas leguminosas forrageiras, destaca-se a pouca atenção dos programas de melhoramento genético à reação das plantas ao pastejo (Perez & Dall'Agnol, 2009). Entretanto, o melhoramento genético de alfafa para aptidão ao pastejo é uma alternativa importante para o

desenvolvimento e estabelecimento desta cultura. No Brasil, os estudos com o objetivo de selecionar alfafa tipo pastejo são recentes, no entanto, trabalhos têm mostrado que as características morfológicas de plantas de alfafa influenciam na aptidão ao pastejo. Segundo Briske (1996), a aptidão ao pastejo depende de mecanismos que possibilitem às plantas sobreviverem e crescerem sob pastejo. Esses mecanismos são o escape (mecanismos que reduzem a probabilidade da planta ser desfolhada) e a tolerância (mecanismos que aumentam o crescimento da planta após o pastejo). O primeiro depende de características morfológicas e componentes bioquímicos, enquanto que a tolerância depende da disponibilidade meristemática e dos processos fisiológicos da planta que permitam a rebrota (Briske, 1996).

2.1.4 Os solos ácidos

Uma das principais limitações dos cultivos agrícolas nos trópicos está relacionada à ocorrência de solos ácidos. Em torno de 30% da área da crosta terrestre é composta de solos ácidos (pH ≤ 5,5), o que corresponde a mais de 50% dos solos potencialmente agricultáveis no mundo, sendo que as regiões tropicais e subtropicais contam com a maior porção (60%) (Von Uexküll & Mutert, 1995).

A formação de solos ácidos é o resultado da combinação de muitos fatores, tais como, tempo, clima, relevo e material de origem. Dentre os fatores citados, os que apresentam maior relevância na formação dos solos ácidos são a presença de altas temperaturas e a intensidade das chuvas associadas ao material de origem do solo (Lopes et al., 1991). Em solos tropicais e subtropicais úmidos, com altas precipitações pluviométricas, nutrientes solúveis

como cálcio, magnésio, potássio e outros elementos básicos são lixiviados. Quando a remoção de cátions básicos é maior que sua taxa de liberação pelas intempéries, o pH do solo diminui. A mineralização da matéria orgânica por microorganismos do solo resulta na liberação de nitrato e hidrogênio, ocasionando a diminuição do pH. Em pH baixo, o hidrogênio (H^+) atua sobre os minerais liberando íons alumínio (Al^{3+}), que ficam predominantemente retidos pelas cargas negativas das partículas de argila do solo, em equilíbrio com o Al^{3+} em solução. Assim, a quantidade de Al^{+3} em solução aumenta com a acidez do solo (Bohnen, 2006).

Os solos podem ser ácidos devido ao baixo teor de bases do material de origem ou devido a processos de formação que favorecem a remoção ou lavagem de elementos básicos como K, Ca, Mg, Na e outros. Além disso, os solos podem ter sua acidez aumentada por cultivos e adubações. Em ambos os casos, a acidificação se inicia, ou se acentua, devido à remoção de bases da superfície dos colóides do solo. A origem da acidez do solo é causada principalmente por lavagem de Ca e Mg do solo pela água da chuva ou irrigação (Oliveira & Costa, 2009).

Existem três motivos principais que provocam a acidificação do solo. A primeira ocorre naturalmente pela dissociação do gás carbônico que transfere-se para a fase sólida do solo e libera um cátion trocável, que será lixiviado com o bicarbonato. Esse fenômeno é favorecido por valores de pH elevados, tornando-se menos importantes em pH baixos, sendo inexpressivo a pH abaixo de 5,2. Portanto, em solos muito ácidos não é provável uma grande acidificação através do bicarbonato. A segunda causa da acidificação é

ocasionada por alguns fertilizantes, sobretudo os amoniacais e a uréia, que durante a sua transformação no solo, sob ação dos microrganismos libera H^+. Uma terceira causa importante da acidificação dos solos é a hidrólise do alumínio, a qual produz íons H^+. (Oliveira et al., 2005)

A acidez dos solos pode ser dividida em acidez ativa e acidez potencial. A acidez ativa é representada pelo hidrogênio dissociado, ou seja, na solução do solo na forma de H^+ e é expressa em valores de pH. A acidez potencial divide-se em acidez trocável e acidez não trocável. A acidez trocável refere-se aos íons H^+ e Al^{3+} que estão retidos na superfície dos colóides do solo por forças eletrostáticas. A quantidade de hidrogênio trocável em condições naturais parece ser pequena. A acidez não trocável é representada pelo hidrogênio de ligação covalente, associado aos colóides com carga negativa variável e aos compostos de alumínio. (Oliveira & Costa, 2009).

O Al^{3+}, por sua vez, é um dos componentes mais importantes da acidez potencial do solo, porque reage com a água, liberando íons H^+. A acidez potencial devido ao Al trocável é observada em pH ≤ 5,5. Em solos com pH acima de 5,5, o Al encontra-se em formas insolúveis (Jones, 1979; Bohnen, 1975). Os efeitos deletérios da acidez do solo podem ser resolvidos com a aplicação de corretivos. No entanto, isto não é possível para as camadas mais profundas, pois além dos corretivos não se moverem com facilidade no solo, não há máquinas que permitam, com viabilidade econômica, a correção além da camada denominada arável. Conseqüentemente, as raízes são restringidas às camadas superficiais corrigidas, diminuindo o potencial das plantas em situações de estresses (Sumner et al.1986).

2.1.4.1 Toxidade do alumínio em plantas

A tolerância ao Al pelas plantas varia entre espécies, sendo que, em geral para forrageiras, recomenda-se pH em água acima de 5,5 para gramíneas, de 6,0 para leguminosas e de 6,5 para a alfafa (Almeida et al., 1997). A faixa entre 5,5 e 6,0 de pH em H_2O do solo é onde ocorre o maior equilíbrio na disponibilidade dos nutrientes para as plantas (Almeida et al., 1997). Abaixo desses níveis, o efeito da acidez do solo sobre as plantas provém principalmente das alterações químicas, entre elas: solubilização na solução do solo do alumínio (Al), manganês (Mn) e ferro (Fe), atingindo níveis tóxicos, assim como a complexação de alguns elementos essenciais, sendo o fósforo (P) o mais limitado (Kochian, 1995).

Os danos causados pelo Al às plantas, assim como os mecanismos ligados à tolerância deste elemento, tem sido abordadas em publicações recentes, sendo que são vários os sintomas das injúrias causadas pela presença de Al tóxico na solução do solo (Delhaize & Ryan, 1995). Em algumas espécies, os sintomas nas folhas lembram à deficiência de fósforo, em outras, deficiências de cálcio ou de ferro. As raízes danificadas pelo Al^{3+} apresentam um desenvolvimento característico nas extremidades, com a região meristemática das raízes principais e laterais engrossadas e apresentam uma coloração mais escura, sendo essas ineficientes na absorção de água e nutrientes (Foy et al., 1978).

A toxidade do Al está ligada não apenas a presença de grande quantidade do elemento no solo, mas principalmente pela sua atividade no meio, que é dependente do pH, da saturação de outros cátions e fatores

biológicos, como a quantidade de matéria orgânica. Além disso, a forma química em que o Al se apresenta na solução do solo, que é dependente do pH do meio, pode influenciar a atividade deste Al, promovendo ou revertendo sua ação tóxica. Assim, existem diferentes formas de ocorrência do Al na solução do solo, dependendo de condições de pH, e que apresentam-se mais ou menos tóxicas (Foy et al., 1978).

O Al é o metal mais abundante da crosta da terra (Haug & Foy, 1984), ocorre em diferentes formas no solo e parte da dificuldade em estudar os processos que ocorrem nas plantas, decorrente da ação deste metal, pode ser atribuída à complexa química do mesmo. O Al se hidrolisa na solução, predominando a forma $Al(H_2O)_6^{3+}$, chamado convencionalmente por Al^{3+}. Conforme o aumento do pH, o $Al(H_2O)_6^{3+}$ sofre sucessivas desprotonações para formar $Al(OH)^{2+}$ e $Al(OH)_2^{+}$. Em solos com pH próximo a neutralidade, ocorre as formas $Al(OH)_3$ e o $Al(OH)_4^{-}$ predomina em condições de solo alcalino. (Delhaize & Ryan, 1995).

É importante compreender como se manifesta a toxicidade do alumínio Al^{3+} nas plantas, para melhor compreensão dos mecanismos de tolerância a este elemento. Neste caso, vários efeitos são descritos na literatura como sendo os principais envolvidos com a toxicidade do Al. Quando o pH do solo é ≤ 5,5, e na presença do Al^{3+} , o mesmo solubiliza-se na solução do solo, tornando-se potencialmente tóxico para as plantas (Kochian, 1995).

Beckmann (1954) observou pela primeira vez em trigo e outros cereais sintomas de amarelecimento e de redução de crescimento de planta, sintoma que denominou de “crestamento”. O primeiro sintoma da toxicidade do

Al detectável é extremamente rápido, pois em questão de minutos inibe o crescimento da raiz, resultando em redução e danos no sistema radicular (Silva et al., 1984; Jones & Kochian, 1995; Barceló & Poscherieder, 2002).

Muitos estudos têm mostrado que a inibição do crescimento da raiz é o sintoma visível mais rápido da toxicidade do Al em plantas, o que resulta na redução e em danos do sistema radicular, podendo conduzir à deficiência mineral e estresse hídrico (Degenhardt et al., 1998). A redução do crescimento da parte aérea ocorre num momento posterior (Ryan et al., 1993; Jones & Kochian, 1995) e parece ser uma conseqüência dos danos que ocorrem na raiz (Matsumoto et al., 1976).

Delhaize & Ryan (1995) relataram que, em condições de soluções com nutrientes simples, concentrações microMolares de Al podem inibir o crescimento de raízes em 60 minutos, resultando em uma redução e danos no sistema radicular. Em cultivo hidropônico com tratamentos com Al, Freitas et al. (2006) observaram significativa redução da absorção dos macronutrientes P, Mg, Ca e K em genótipos de arroz.

Fageria & Baligar (1999), trabalhando com várias espécies em casa-de-vegetação utilizando solos com pH variando de 4,9 a 7,0, notaram que todas tiveram o peso de matéria seca da parte aérea afetado pelo pH, e que para a soja o valor ideal foi de 5,6. Para alguns autores, a causa primária da inibição do crescimento da raiz pelo Al é a inibição da mitose nas células do meristema apical da raiz. Já foi demonstrado que o Al pode interagir com os ácidos nucléicos e esse metal tem realmente sido detectado nos núcleos das células das raízes (Matsumoto et al., 1976). Inibição da mitose nas células do

meristema apical da raiz também já foi relatada (Clarkson, 1965; Morimura et al., 1978). Diferentes hipóteses para o mecanismo desta inibição induzida por Al no crescimento das raízes têm sido discutidas por muitos autores, entre elas estão relacionadas à inibição da divisão celular nas raízes e à inibição na elongação das células das raízes (Barceló & Poschenrieder, 2002).

Parâmetros relacionados com o crescimento das células das raízes foram estudados por Barceló et al. (1996) em plantas de milho expostas por 24h a diferentes valores de pH ou a 50 µM de Al. Os resultados obtidos por esses autores sugeriram que tanto o pH ácido como o Al diminuem a elasticidade das raízes de milho.

As leguminosas, como a alfafa, possuem a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico através de associações endosimbióticas com bactérias pertencentes, principalmente, aos gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium.* A interação entre esses organismos é altamente específica, podendo ocorrer em nível de espécie ou até mesmo de cultivar (Freire, 1992). No entanto, a eficácia desta relação pode ser afetada em solos ácidos, pois o alumínio se liga as células do rizóbio, interferindo na síntese de DNA dessas bactérias, levando a uma redução na colonização do solo (Johnson & Wood, 1990).

Alguns trabalhos mostram que o Al em altas concentrações e o baixo pH afetam com maior severidade a formação de nódulos e a fixação simbiótica de nitrogênio, quando comparado ao crescimento radicular das plantas hospedeiras (Jo et al., 1980).

Devido à grande importância da associação benéfica entre as bactérias fixadoras de nitrogênio e as leguminosas, os programas de

melhoramento de leguminosas tolerantes a solos ácidos devem estar associados a programas de seleção de rizóbios tolerantes ao alumínio.

2.1.4.1.2 Tolerância ao alumínio

Espécies e cultivares de plantas variam extensivamente no grau de tolerância ao excesso de Al no meio em que crescem. Bennet & Breen (1991) comentaram que o Al possui algumas propriedades inerentes distintas de elementos biologicamente importantes, como o Ca, e que essas propriedades são fundamentais para as plantas desenvolverem mecanismos de tolerância ao Al.

Os mecanismos de tolerância ao Al tem sido distinguido pelas pesquisas em duas classes principais: aqueles que atuam no sentido de impedir a entrada do Al pela raiz (mecanismo de exclusão) e aqueles que permitem a planta acumular o Al em locais específicos na própria planta (mecanismo de tolerância) (Kochian, 1995; Kochian & Jones, 1997; Matsumoto, 2000; Ryan et al., 2001; Barceló & Poschenrieder, 2002). A maior parte das pesquisas está focada na exclusão do Al pela exsudação de ácidos orgânicos ativados pela presença do Al no ápice da raiz.

Vários são os artifícios desenvolvidos pelas plantas visando aumentar a tolerância ao alumínio, sendo a exsudação radicular de bioMoléculas orgânicas a resposta mais amplamente estudada e explorada pelos pesquisadores (Taylor, 1991; Samac & Tesfaye, 2003; Kang & Ishii, 2006).

A exclusão do Al da extremidade das raízes pode ser obtida pela

exudação de ácidos orgânicos da ponta da raiz, pois quando liberados na rizosfera atuam como quelantes do Al^{3+} (Hoekenga et al., 2003). Trabalhos têm mostrado que plantas tolerantes ao Al usam ácidos orgânicos para se desintoxicarem do Al^{3+}, tanto internamente como na rizosfera. Ânions como citrato, oxalato e malato são alguns exemplos que podem formar complexos com o Al, protegendo as raízes das plantas da ação deste metal. Este mecanismo foi detectado em trigo, onde genótipos tolerantes acumularam de três a oito vezes menos Al no ápice da raiz (sítio crítico da toxidez do Al) em relação a genótipos sensíveis (Delhaize et al.,1993).

Miysaka et al. (1991) forneceram evidências que o mecanismo de tolerância ao Al, em feijão, envolve fluxo de ácido cítrico. Delhaize et al. (1993) demonstraram que, em linhagens de trigo, a presença de Al induz a liberação de maior quantidade de malato do ápice da raiz nos genótipos tolerantes ao Al quando comparados com plantas de genótipos sensíveis.

Santos (2009), trabalhando com uma seleção de germoplasmas de cornichão (*Lotus corniculatus* L.) em solo ácido e solução nutritiva contendo Al tóxico para tolerância ao Al, identificou que o maior crescimento da raiz e maior desenvolvimento da parte aérea pode ter sido influenciado pela maior exsudação de ácido oxálico pelas raízes. Este ácido orgânico, em grande quantidade, pode neutralizar as Moléculas próximas a rizosfera, minimizando os efeitos deste metal nos tecidos vegetais.

Os ácidos orgânicos exercem outra função muito importante, que está relacionada com a fitodisponibilização do fósforo, uma vez que estes compostos são capazes de dissociar os complexos P-Al e P-Fe, formando

compostos estáveis com o Al e Fe e liberando o P para a solução do solo (Sposito, 1989). Desta forma, a presença de grandes quantidades dessas substâncias no solo pode ter importantes implicações em química e nutrição de plantas (Gardner et al., 1982).

Pesquisas têm sido feitas com relação à capacidade de diferentes espécies de plantas de acumular elevadas quantidades de Al em seus tecidos, como meio de desintoxicação interna do Al nas plantas. Estudos sobre duas espécies, hortênsia (*Hydrangea macophylla*) e trigo sarraceno (*Fagopyrum esculentum*), que acumulam Al, têm despertado interesse dos pesquisadores (Ma et al., 1997).

Em trabalhos feitos com *Brachiaria ruziziensis*, ocorram duas vezes mais acúmulo de Al nos ápices radiculares em relação à espécie *Brachiaria decumbens*, porém não foi constatada a exsudação de ácidos orgânicos na superfície do ápice da raiz em ambas as espécies (Wenzl et al., 2001). Em estudo subseqüente, com intuito de investigar o processo de desintoxicação interna do Al, Wenzl et al. (2002), identificaram um incremento significativo de citrato nas pontas de raízes em ambas as espécies de *Brachiaria* e somente uma pequena fração deste ácido orgânico fora secretado pelo ápice radicular. Os autores sugeriram que um processo interno de desintoxicação e seqüestro do Al pelo citrato pode desempenhar importante papel na tolerância ao Al destas espécies.

Os compostos fenólicos também são considerados mecanismos de tolerância exercido pelas plantas, pois possuem a capacidade de complexar metais, como o Al, além de ter ação como agente antioxidante em condições

de estresse abióticos. Devido a isto, estes compostos começaram a ser relacionados com a tolerância ao Al (Matsumoto et al., 1976; Ofei-Manu et al., 2001).

2.2 Melhoramento genético de alfafa

A percepção de que o uso de leguminosas forrageiras resultaria em uma contribuição potencial ao sistema de produção animal nos trópicos ocorreu na década de 1960. Havia o conhecimento de que as gramíneas tropicais apresentavam menor qualidade nutricional do que as temperadas e que a introdução de leguminosas tropicais, adaptadas ao sistema de criação de animais sob pastejo, resolveria dois problemas: o do baixo nível de nitrogênio nos solos da região e o da reduzida qualidade protéica disponível na dieta de ruminantes (Sheltom et al., 2005).

O melhoramento genético apresenta ferramentas úteis para criar cultivares melhoradas e adaptadas, a partir de variedades exóticas, utilizando a variabilidade existente no germoplasma da espécie. Com a recombinação dos acessos selecionados, aumenta-se a freqüência de alelos favoráveis, havendo assim maior possibilidade de se obter ganhos efetivos de seleção no melhoramento da espécie (Allard, 1971).

Na alfafa os métodos de melhoramento utilizados são o melhoramento interpopulacional e intrapopulacional (Pereira et al., 2001). O melhoramento interpopulacional tem como base o fluxo de genes entre populações, através da polinização livre ou aberta, obtendo-se, assim, linhagens, sintéticos e híbridos. O melhoramento intrapopulacional tem por finalidade incrementar a freqüência de genes favoráveis dentro de uma mesma

população de plantas, tendo sido utilizado para aumentar a resistência a pragas e doenças da alfafa (Rumbaugh et al., 1988).

Tratando-se de espécies autopoliplóides, como a alfafa, um dos métodos de melhoramento interpopulacional que proporciona melhores resultados para ampliar a base genética e preservar genes favoráveis é a constituição de populações sintéticas (Pereira et al. 2001). A obtenção de uma população sintética superior de alfafa pode ser conseguida através do cruzamento de um número elevado de genótipos com significativo grau de divergência e complementação alélica.

O método intrapopulacional utiliza diferentes formas de seleção para melhorar características dentro da população. A unidade de seleção pode ser constituída de plantas individuais ou famílias de plantas. Vários procedimentos são usados em plantas individuais, e com freqüentes modificações, como: seleção massal, seleção materna, seleção de linhas clonais e testes de progênies (Borén & Miranda, 2009).

Em função de ter sido a primeira espécie forrageira domesticada, suas características de adaptação aos diferentes tipos de clima e solo fizeram com que se tornasse conhecida e cultivada em quase todas as regiões agrícolas do mundo. Os primeiros trabalhos de melhoramento foram realizados nos Estados Unidos entre 1903 e 1915, buscando a tolerância ao frio e posteriormente, a resistência a doenças, devido ao surgimento da murcha bacteriana causada pela bactéria *Clavibacter michignensis.* Além desses dois assuntos, a resistência a doenças e a presença de rizomas também eram bastante discutidos em estudos de melhoramento genético (Jacques, 1975).

2.2.1 Melhoramento de alfafa para tolerância a solos ácidos

A alfafa é muito sensível a solos ácidos com níveis tóxicos de Al e manganês (Mn), requerendo uma grande quantidade de corretivos e a aplicação de fertilizantes para poder obter uma alta produção de forragem. Foy (1974), estudando a resposta da alfafa a calagem em vários solos dos Estados Unidos, concluiu que o Al e Mn tóxicos e a deficiência de cálcio foram os principais fatores limitantes para o crescimento da alfafa.

Desde muitos anos atrás existem trabalhos que reportam os esforços para a seleção de plantas tolerantes ao alumínio (Al). Ouelette e Dessureaux (1958), analisando a composição química da alfafa quando submetida a estresses de Mn e Al, observaram que havia diferenças quanto à resposta individual, ou seja, as plantas absorveram quantidades semelhantes dos elementos, mas translocaram quantidades diferentes para a parte aérea. As plantas mais afetadas possuíam maiores quantidades dos elementos Mn e Al nas folhas enquanto que as plantas mais tolerantes armazenavam mais os elementos nas raízes.

Buss et al. (1975), avaliando clones de alfafa quanto à resposta a diferentes níveis de pH e a influência deste nas concentrações de elementos nas plantas, notaram que os clones selecionados para solos ácidos mostraram-se variáveis quanto à produção. Com estes trabalhos pode-se verificar que existe variabilidade genética em alfafa suficiente para selecionar plantas mais tolerantes em solos ácidos.

Devine et al. (1976), após dois ciclos de seleção recorrente fenotípica, evidenciaram que plantas selecionadas para tolerância ao Al tinham

mais vigor do que plantas sensíveis e concluiu que a seleção para tolerância ao Al poderia ser possível, porém lenta. Campbell et al. (1994), em cruzamentos genéticos observaram que as progênies não tolerantes que foram cruzadas com genótipos, tolerantes foram relativamente também tolerantes, indicando que a tolerância pode ser um fator dominante em relação a sensibilidade.

Caetano (1998), trabalhando com seleção de alfafa para tolerância ao Al, evidenciou a existência de variabilidade dentro da alfafa Crioula, e ainda dentro das populações selecionadas, possibilitando assim a seleção de plantas tolerantes ao Al.

No melhoramento de plantas para tolerância ao Al, é necessária a adoção de métodos de seleção que simulem o melhor possível o ambiente onde a planta será utilizada, proporcionando também maior controle dos fatores de estresse e facilitando o trabalho de melhoramento (Santos, 2009). Dentre muitas técnicas utilizadas para identificar plantas tolerantes ao Al^{+3}, existem dois métodos básicos de seleção, um é utilizando-se solo e o outro solução nutritiva. Esses métodos têm sido bastante utilizados devido a sua rapidez, facilidade e economia (Caradus, 1989). Além disso, se baseiam na inibição do crescimento radicular, avaliação do acúmulo de Al nas raízes ou acúmulo de biomassa.

A metodologia da seleção de plantas tolerantes ao Al em solo consiste na avaliação do crescimento das plantas em um solo com altos valores de saturações de Al, podendo ser realizado a campo ou em ambiente controlado, onde são selecionadas as plantas que se apresentam mais tolerantes (Echart & Cavalli-Molina, 2001). As desvantagens deste método

quando realizado a campo são o custo elevado, a vulnerabilidade dos materiais em relação às condições ambientais, a complexidade das relações planta-ambiente e o maior período de tempo necessário, que normalmente exige um ciclo de crescimento completo (Carver & Ownby, 1995).

Estudos utilizando o método de solução nutritiva são bastante usados para testar e avaliar plantas tolerantes ao Al (Villagarcia et al., 2001). Um dos motivos é por permitirem avaliar os estresses individualmente (pH, Al, Mn). No entanto, este método não é tão recomendado para plantas com longo ciclo de vida e que manifestem a tolerância ao Al apenas na fase adulta (Kinraide, 1991). Howeler (1991) comentou que as vantagens da solução são a rapidez e a preservação da planta selecionada, pois não é destrutivo, e ainda consegue manter um controle maior sobre os fatores de estresses. Porém as desvantagens são: as concentrações utilizadas maiores que aquelas encontradas no solo; não levam em consideração as condições dos diferentes fatores encontrados no solo e; indicam somente a resposta da planta no período inicial de desenvolvimento. No entanto, para esta última desvantagem citada, Blaha et al. (1997) comentaram que o uso de seleção de plantas na fase juvenil para estas condições de desenvolvimento parece ser favorável.

O melhoramento de plantas exige que os procedimentos sejam cada vez mais rápidos, com menos custos e cada vez mais eficientes (Borém & Miranda, 2009). Desta forma, a solução de cultura ou nutritiva tem sido o meio mais utilizado para a seleção de plantas tolerantes ao Al, sendo que as soluções simples ou com força iônica menor, são cada vez mais comuns.

As soluções nutritivas com uma força iônica menor são

recomendadas nos trabalhos que associam o uso do Al. Essa recomendação baseia-se no fato de que as soluções com elevada força iônica, diminuem a fitotoxidade do Al (Novais et al., 1991). Dentro desse conceito, muitos trabalhos têm sido realizados com soluções completas, com força iônica reduzida, ou com soluções simples de cálcio (Ca) e alumínio (Al) (Spehar & Makita, 1994). Além disso, permitem uma computação mais precisa da especiação do Al e o nível da toxidez de alumínio, que pode ser facilmente regulado por meio de variações no pH ou na concentração de Ca (Santos, 2009). Segundo Wenzl et al. (2003), tais soluções simulam, de forma mais adequada, as concentrações iônicas características de soluções de solos ácidos.

Esta metodologia é baseada no fato de que as plantas são mantidas geralmente, em uma solução ácida contendo Al tóxico, onde é mensurado o comprimento radicular após alguns dias. A tolerância é avaliada pela comparação do comprimento radicular das plantas testadas em relação à testemunha que não recebeu tratamento com Al^{3+} (Samac & Tesfaye, 2003). Este método vem sendo utilizado para discriminar genótipos tolerantes ao Al além de avaliar a tolerância em diferentes espécies.

Scheffer-Basso et al. (2000) avaliaram a tolerância de *Adesmia spp*. ao alumínio em solução nutritiva. Neste estudo foi utilizada solução nutritiva com cinco doses de Al (0, 0,62; 1,86; 3,1 e 6,2 µMol/L) e cálcio (225,22 µMol/L), tendo sido avaliados após 13 dias a massa e o comprimento de raízes. Os autores evidenciaram que *Adesmia latifolia* é mais tolerante ao Al^{3+} do que *Adesmia tristis*. Milan et al. (1991) também avaliaram *Adesmia latifolia* e *Adesmia tristis* quanto à tolerância ao alumínio e à eficiência da utilização de

fósforo e verificaram que essas espécies foram mais eficientes na absorção de fósforo em níveis de baixo pH.

Crestani et al. (2009) testaram a tolerância ao Al de diferentes genótipos de aveia preta (*Avena strigosa* Scherb) em solução nutritiva utilizando cinco doses de Al (0; 185,2; 370,4; 740,8 e 1481,6 µMol) e verificaram que a aveia preta Comum e cv. Embrapa 140 apresentam maior tolerância ao Al do que as demais cultivares testadas.

Peixoto et al. (2007) avaliaram as alterações morfológicas e acúmulo de compostos fenólicos em diferentes cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor*) sob estresse de Al em solução nutritiva e identificaram, em raízes de plantas da cultivar tolerantes ao Al, maior acúmulo de lignina e menor produção de compostos fenólicos quando na presença de Al^{3+}.

Janke (2010), trabalhando com uma seleção de genótipos de cornichão (*Lotus corniculatus* L.) tolerantes ao Al, utilizou solução nutritiva contendo 200 µMol/L de cálcio e quatro diferentes concentrações de Al (0, 50, 100, 150 µMol/L). Foram avaliados o comprimento inicial e final além do crescimento das radículas. Neste trabalho, o método de seleção nutritiva mostrou-se eficiente na seleção de plantas tolerantes ao alumínio.

Em outro trabalho, Caetano (1998) utilizou três métodos para a seleção de genótipos de alfafa tolerantes ao Al, sendo eles: solução nutritiva, solo e solo seguido de solução. As plântulas foram submetidas por 12 dias na solução, contendo 0,62 mMol/L de cálcio e 0,37mMol/L de Al com pH de 4,5. O solo utilizado foi do tipo argiloso, com saturação de Al de 2,5% sendo os materiais mantidos por aproximadamente 50 dias. No método solo seguido de

solução foram utilizadas plantas previamente selecionadas em solo e posteriormente em solução. O autor relatou que todos os métodos foram eficientes.

Santos et al. (2008), avaliando o crescimento radicular dos genótipos de alfafa selecionados por Caetano (1998) em solução nutritiva contendo diferentes níveis de Al (0, 6, 12, 24 e 48 µMol/L), observaram que em todas as concentrações de Al ocorreu um aumento de 20 e 40% nas populações solo, solução e cruzada. Os resultados indicaram a possibilidade de distinguir genótipos de alfafa com diferentes graus de tolerância ao Al, em curto prazo, utilizando solução nutritiva.

Em 2002, Caetano et al. (2002), realizaram um estudo para determinar níveis de Al em solução nutritiva para a seleção de plantas de alfafa e de trevo vermelho tolerantes a acidez do solo e comparar essas espécies nas concentrações de Al testadas. Avaliaram oito concentrações de 0, 1,4, 2,1; 2,9; 4,3, 6,5, 8,7 e 10,9 µMol/L de Al em uma solução nutritiva completa. Foi avaliado o comprimento final das raízes e da parte aérea das plântulas. A avaliação das raízes mostrou-se mais eficiente do que a parte aérea na seleção de plantas tolerantes a toxidade de Al. O nível mais adequado para seleção em ambas as espécies esteve entre 0,4 e 0,6 mg/L de Al. O método foi considerado rápido (treze dias) e de fácil execução.

Por fim, Rocha et al. (2007) e Martins et al. (2007), também trabalhando com a seleção de alfafa para tolerância ao Al tóxico utilizando o método de seleção nutritiva testaram 17 genótipos de alfafa em diferentes concentrações de Al (0,0 e 8,2 µMol/L de Al). Foram avaliados o crescimento

inicial e final da parte aérea e das raízes, além da matéria seca da parte aérea e das raízes e nestes experimentos também foi possível discriminar o genótipo mais tolerante ao Al.

2.2.2 Melhoramento de alfafa para pastejo

Os primeiros trabalhos melhoramento de alfafa para pastejo provavelmente tentam ocorrido nos anos de 1897 a 1909, na tentativa de introduzir a alfafa em áreas de campo nativo na região nordeste dos Estados Unidos da América. Nas estepes da Sibéria, foi coletado um tipo de alfafa que parecia ser mais adaptada às condições ambientais. Esses materiais serviram como base para o programa de melhoramento da região de pastagens naturais de clima seco no Canadá, resultando no lançamento da cv. Rambler, em 1955 (Heinrichs, 1978).

Com relação à persistência da alfafa ao pastejo, é provável que um dos primeiros estudos tenha sido realizado por Kaehne (1978), na Austrália, com avaliações de alfafa em pastejo continuo e intenso, cuja metodologia serviu de base para a construção do protocolo de seleção atualmente utilizado. Neste estudo, foram testadas cinqüenta populações obtidas através de cruzamentos de diferentes tipos de alfafa que, após 22 meses sob pressão de pastejo elevada e contínua, onde a altura do resíduo era mantida abaixo de 5 cm de altura, as plantas sobreviventes foram caracterizadas quanto à sobrevivência e à produção, constatando-se diferenças importantes entre os grupos. Estudos realizados por Brummer & Bouton (1991) e Smith & Bouton (1993) apontaram características morfológicas como coroas largas e profundas, plantas com hábito decumbente e habilidade de expansão lateral

como indicativos da adaptação ao pastejo.

Com o avanço dos trabalhos de melhoramento genético visando obter cultivares tolerantes ao pastejo, o hábito de crescimento da alfafa foi sendo modificado. A alfafa tipo-feno possui hábito ereto, com elevada produção de forragem. Já as primeiras cultivares tipo-pastejo apresentavam hábito decumbente e baixo potencial de produção de forragem (Smith & Bouton, 1989; Kallenbach et al., 2002). No entanto, posteriores avanços proporcionaram o lançamento de cultivares com dormência, como a cv. Alfagraze e não dormentes como a cultivar ABT (Bouton et al., 1991), consideradas um importante avanço no melhoramento genético de alfafa para aptidão ao pastejo.

A Austrália e Argentina também possuem diversas pesquisas para o desenvolvimento e lançamento de cultivares com aptidão ao pastejo. A seleção consiste na identificação de plantas com boas características agronômicas (crescimento vigoroso e coroa ampla e compacta) observadas em campos de alfafa pastoreadas por vários anos. Frutos destas pesquisas são as cultivares: Aquárius, Monarca SP Inta, Pro Inta Super Monarca, Pro Inta Mora e Victória SP Inta (Hijano & Basigalup, 1995).

No Brasil, a Região Sul foi a pioneira na produção de alfafa, tendo sido os pesquisadores do Rio Grande do Sul os primeiros no país a conduzirem experimentos com o objetivo de identificar cultivares adaptadas (Bassols et al., 1979; Saibro, 1985), bem como definir práticas de estabelecimento, manejo e utilização da alfafa nas condições edafoclimáticas brasileiras (Fischer et al., 1984; Zimmer et al., 1982). Nos anos de 1995 a 2005, o Brasil contou também

com a Rede Nacional de Avaliação de Cultivares de Alfafa (RENACAL) onde eram realizados experimentos em mais de vinte locais das Regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste. O objetivo desta rede era avaliar a adaptação de cultivares nacionais e introduzidas em relação a diferentes regiões brasileiras. Como já relatado, embora algunas cvs. tenham apresentado um bom potencial produtivo, houveram grandes problemas relacionados com a persistência destas cultivares, que eram quase sempre superados pela cv. Crioula (Ferreira et al., 2000). No entanto, em quase todo o território nacional, a área cultivada com alfafa é ocupada pela cultivar Crioula ou por materiais derivados dela (Crioula CRA, Crioula Itapuã, Crioula Na Terra, Crioula Nativa, Crioula Ledur, Crioula Roque, Crioula Chile, Crioula UFRGS e outras (Pereira, 2008).

Em função da variabilidade genética e boa aptidão na maioria das condições edafoclimáticas brasileiras, a alfafa Crioula tem sido utilizada como material genético para a obtenção de cultivares derivadas. Programas de melhoramento desta população tem sido conduzidos pela Embrapa Gado de Leite e Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Dall'Agnol et al., 2007; Ferreira & Pereira, 1999).

Estudos com populações de alfafa Crioula sob pastejo têm revelado alto potencial de utilização. Perez (2003) evidenciou que existe variabilidade no germoplasma de alfafa Crioula para a aptidão ao pastejo, o que permite o progresso genético nessa característica. Ruggieri et al. (2005) observaram que a alfafa Crioula foi a mais produtiva para uso em pastejo em relação a produção de forragem e número final de hastes. Fávero (2006), ao comparar

populações de alfafa de diferentes aptidões, identificou similaridade entre as populações de alfafa Crioula e a cultivar “Alfagraze” na alocação de carboidratos para o sistema radicular. Esta característica está associada à persistência da planta sob pastejo e demonstra que a alfafa Crioula apresenta variabilidade para o melhoramento visando pastejo.

O melhoramento genético de alfafa para aptidão ao pastejo é um importante passo para o desenvolvimento e estabelecimento desta cultura no Brasil, onde estes estudos ainda são recentes. Métodos convencionais de melhoramento de plantas forrageiras são caros e demorados, devido à necessidade de maior área experimental, maior tempo de avaliação, além de animais em pastejo. Sendo assim, uma alternativa é o uso de métodos de seleção mais rápidos e eficientes como o uso de marcadores morfológicos.

Marcadores morfológicos podem ser conceituados como sendo fenótipos de fácil identificação, normalmente determinado por um alelo. Características fenotípicas são utilizadas como marcadores morfológicos desde os tempos de Mendel, como fenótipos de fácil identificação visual (LGE, 2009).

Na cultura da alfafa, as cultivares que possuem aptidão ao pastejo possuem características morfológicas particulares, como: hábito de crescimento mais prostrado, coroa bem desenvolvida e entrenós mais curtos em relação as cultivares tipo-feno (Bouton et al., 1991; Hijano & Basigalup, 1995). Smith Jr. et al., (1989) relataram os seguintes caracteres relacionados à tolerância ao pastejo: formação de gemas a nível superficial e resistência a pragas e doenças. Por outro lado, Márquez-Ortiz et al. (1996) ratificaram a importância de plantas com coroas vigorosas, em razão de sua associação

com a persistência e a produção de matéria seca.

Perez & Dall'Agnol (2009), sugeriram que a presença de gemas específicas, ou seja, o número de meristemas axilares produzidos por grama de matéria seca alocada às hastes, pode ser considerada como um descritor funcional, pois verificaram que existe grande poder de discriminação quanto à aptidão ao pastejo e que poderia servir como marcador morfológico. Neste experimento, os autores verificaram que o número de gemas encontrado em plantas de uma cultivar que possui aptidão ao pastejo foi duas vezes superior ao apresentado pelos demais materiais testados, a partir da mesma quantidade de matéria seca. Segundo os autores, essa característica é muito importante em plantas dicotiledôneas, como a alfafa, quando são mantidas sob desfolha freqüente. Isso porque, a maior parte do desenvolvimento dessas espécies está associada à elongação das hastes, o que faz com que a remoção dos pontos de crescimento (gemas axilares) seja bastante intensa. Dessa forma, uma elevada expressão de gemas específicas está relacionada com uma maior probabilidade de manutenção de gemas ativas depois do pastejo, assim como uma reposição dos meristemas com menor custo metabólico.

Perez (2003) evidenciou que a aptidão ao pastejo pode ser relacionada com características morfológicas com relação a porção das hastes, como entrenós de dimensão reduzida e elevada expressão de gemas específicas. O mesmo autor demonstrou que existe variabilidade fenotípica na fase inicial de desenvolvimento em alfafa, permitindo separar genótipos quanto à aptidão ao pastejo através do comprimento do primeiro entrenó, possibilitando o uso como marcador morfológico para a detecção precoce da

aptidão ao pastejo.

Corroborando com Perez (2003), Fávero et al. (2009) também demonstraram que em alfafa o comprimento dos entrenós ainda no estágio de plântula pode ser um marcador morfológico promissor na seleção de alfafa, assim como a altura da planta, número de folhas, volume de raízes e área foliar. Pezzini & Scheffer-Basso (2008) afirmaram que populações de alfafa podem ser selecionadas ainda no estádio de plântula através do comprimento dos entrenós e pelo grau de ramificações basilares.

Mais recentemente, Brandoli (2009) confirmou que na alfafa Crioula há variabilidade genética para o hábito de crescimento e que essa variação pode ser perceptível ainda no estágio de plântula. Nesse trabalho, o autor avaliou marcadores morfológicos selecionados na fase fenotípica de plântula e verificou que os mesmos são capazes de discriminar precocemente plantas com aptidão ao pastejo. Identificou também que o comprimento do primeiro entrenó é o marcador que apresenta maiores possibilidades de discriminar precocemente os genótipos contrastantes ao pastejo. Além disso, quando avaliou a herdabilidade desses caracteres morfológicos, no sentido amplo, identificou que a mesma é alta, demonstrando a possibilidade de progresso na aptidão ao pastejo. O mesmo autor mostrou também que a seleção baseada em marcadores morfológicos foi capaz de alterar a freqüência dos mesmos nas populações selecionadas.

Nesse sentido, se o programa de melhoramento dispuser de marcadores morfológicos em estágio precoce de desenvolvimento da planta, tais como, entrenós mais curtos em relação às cultivares tipo feno, hábito de

crescimento prostrado e coroa bem desenvolvida (Bouton, 1999), o processo de seleção pode ser acelerado e ter seu custo reduzido.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização e seleção de alfafa em solução nutritiva para tolerância ao alumínio.

3.1.1 Local do experimento

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, no Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande de Sul (UFRGS), localizada no município de Porto Alegre – RS, no período de julho de 2009 a dezembro de 2010.

3.1.2 Material vegetal utilizado

Oito genótipos de alfafa foram utilizados, sendo eles: uma população denominada Crioula, quatro populações coletadas no estado do Rio Grande do Sul denominadas Estrela, Erechim, Porto Alegre (POA) e São José do Inhacorá (SJI), sendo esta, uma população que já participa do programa de melhoramento da UFRGS. Também foi utilizada uma população previamente selecionada para aptidão ao pastejo (Brandoli, 2009) denominada Entrenó Curto (EC_1C_1) e duas populações que já participam do programa de melhoramento de plantas forrageiras da UFRGS para tolerância ao Al, sendo

consideradas tolerantes ao Al – Solo (população selecionada em solo ácido) e Solução (população selecionada em solução nutritiva contendo alumínio tóxico) (Caetano, 1998).

3.1.3 Condução do experimento

A metodologia utilizada assim como as diferentes concentrações de cálcio e Al, para a seleção das plantas em solução nutritiva, descritas a seguir, foram baseadas no trabalho realizado por Caetano (1998).

3.1.3.1 Caracterização de populações de alfafa em solução nutritiva com diferentes concentrações de alumínio.

Foi realizado um teste para caracterização inicial das populações e identificação da concentração de Al ($AlCl_3$) na solução que melhor discriminasse as populações quanto à tolerância ao Al. Para tanto, foram utilizadas cerca de 0,60 g de sementes de cada uma das oito populações (Crioula, Estrela, Erechim, POA, SJI, EC_1C_1, Solo e Solução), tendo sido previamente escarificadas com lixa nº 100. As sementes foram semeadas em caixas gerbox sobre papel germitest, que foi umedecido desde o primeiro momento com solução nutritiva contendo: 100 µMol/L de cálcio ($CaCl_2.2H_2O$) e as diferentes concentrações 0,0, 3,0, 6,0, 12, 24, 48 µMol/L de Al ($AlCl_3$). As sementes permaneceram em temperatura ambiente, até a radícula das plântulas de todas as populações já apresentarem pelo menos 10 mm. Para cada população foram utilizadas duas caixas gerbox com as diferentes concentrações de Al e outras duas caixas utilizadas como testemunha, contendo somente a concentração de cálcio.

Após a emissão da radícula, essas plântulas foram transferidas para um volume maior de solução, onde utilizaram-se lâminas de isopor para a sustentação das plântulas na solução, sendo estas conduzidas em bandejas plásticas com capacidade de para 5 L de solução, durante um período de aproximadamente 15 dias. O pH das soluções foi ajustado para 4,2 e as soluções eram trocadas a cada três dias, visando evitar o acúmulo de exudados das raízes e as alterações nas concentrações de Al e Ca. O volume de água era completado quando necessário. A solução foi aerada com compressores com capacidade de 40 L/hora.

FIGURA 1. Transferência das plântulas das caixas gerbox para as placas de isopor (A); sistema radicular (B); disposição do experimento (C e D).

Foi avaliado o comprimento radicular das plântulas sob as diferentes concentrações de Al. Os dados foram submetidos a análise estatística com o

auxílio do software SAS, utilizando análise da varânvia, em um arranjo fatorial (populações x doses de alumínio) para o comprimento radicular (CR), tendo suas médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De acordo com os resultados do desempenho das populações nesta primeira etapa de caracterização dos germoplasmas, avaliados através do comprimento radicular, as concentração 6,0 e 12,0 µMol/L de alumínio ($AlCl_3$) foram as mais satisfatórias. Portanto, na segunda etapa, foi utilizada uma concentração intermediária de 8,0 µMol/L de Al ($AlCl_3$) e 100 µMol/L de Ca ($CaC_2.2H_2O$) para a seleção das plantas.

3.1.3.2 Seleção em solução nutritiva

Foram avaliadas as populações São José do Inhacorá (SJI), Solução e Porto Alegre (POA), por serem as que apresentaram o melhor desempenho quanto à variavel comprimento radicular frente ao Al tóxico. Foi utilizada uma solução nutritiva com 8,0 µMol/L de Al ($AlCl_3$) e 100 µMol/L de Ca ($CaCl_2.2H_2O$) para as três populações, utilizando-se o mesmo protocolo descrito na primeira etapa.

Após as plantas serem mantidas em solução nutritiva, foi realizada a seleção dentro de cada uma das três populações, selecionando-se as plântulas que apresentaram o maior comprimento radicular. A pressão de seleção imposta foi de 10%. Portanto, foram selecionadas 25 plântulas por população, que foram transplantadas para vasos com substrato comercial, composto por farinha de osso, esterco de galinha, cal, casca de pinus e casca de arroz carbonizado. As plantas foram então mantidas em casa-de-vegetação até o florescimento quando cada uma das populações foi cruzada manualmente, por

aproximadamente um período de 60 dias.

Durante todo o período experimental, a casa-de-vegetação recebeu iluminação artificial com o objetivo de estimular e manter o florescimento das plantas. A iluminação foi realizada com lâmpadas alógenas brancas de 150 W de potência, que permaneciam ligadas das 6 às 22 horas.

Os legumes de cada população eram colhidos e acondicionados em sacos de papel, os quais eram levados à estufa de ventilação forçada, com temperatura entre 28 e 30ºC, por um período de 72 horas. Após a secagem, os legumes eram trilhados e as sementes submetidas a um processo de limpeza para posteriormente serem armazenadas separadamente por população, sendo mantidas em refrigerador à 4ºC.

As sementes obtidas através dos cruzamentos realizados constituíram as populações: Solução F_2, São José do Inhacorá F_1 (SJI-F_1) e Porto Alegre F_1 (POA-F_1), as quais passaram pelo segundo processo de seleção pela mesma metodologia utilizada anteriormente visando aumentar a tolerância ao alumínio. As sementes obtidas do novo ciclo foram Solução F_3, SJI-F_2 e POA-F_2.

As populações Solução F_3, SJI F_2 e POA F_2 foram semeadas em caixas gerbox, com duas repetições por população e umedecidas desde o primeiro dia com a solução contendo 8,0 µMol/L de Al ($AlCl_3$) e 100 µMol/L de Ca ($CaC_2.2H_2O$), repetindo o mesmo protocolo utilizado na caracterização. Foi avaliado o comprimento radicular das plântulas em meio com Al tóxico e os dados foram submetidos a análise de variância para um delineamento fatorial, tendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

FIGURA 2. Plantas de alfafa (*Medicago sativa* L.) em casa-de-vegetação (A); início do florescimento (B); inflorescência (C); polinização (D).

3.2 Caracterização e seleção precoce de alfafa para tolerância ao pastejo através de marcadores morfológicos

3.2.1 Local

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, no Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande de Sul (UFRGS), localizada no município de Porto Alegre – RS, no período de outubro de 2009 a dezembro de 2010.

3.2.2 Material vegetal utilizado

Foram avaliadas nove populações de alfafa, sendo elas: ABT- 805

cultivar norte-americana considerada tolerante as pastejo e utilizada neste experimento como testemunha; populações Estrela, Erechim e Porto Alegre (POA) - germoplasmas Crioulos coletados em diferentes locais do estado do Rio Grande do Sul; População São José do Inhacorá (SJI) - também germoplasma crioulo coletada no RS, porém no local onde foi coletada já havia histórico de três anos de utilização sob pastejo, além das populações EC_1C_2, EC_1C_3, EC_2C_2 e EC_2C_3 que já participam do programa de melhoramento de forrageiras da UFRGS e apresentam indicativos de aptidão ao pastejo.

3.2.3 Condução do experimento

3.2.3.1 Caracterização das populações utilizadas

O experimento foi conduzido em bandejas de isopor para mudas, com 128 células (3 x 3 x 6 cm) preenchidas com substrato comercial, onde foram plantadas duas sementes por célula. Após a emergência das plântulas, foi realizado o desbaste deixando apenas uma plântula por célula, a mais centralizada. Durante todo o período experimental, a cada três dias, as bandejas eram movimentadas de modo aleatório, modificando a sua posição na bancada da casa-de-vegetação.

Este experimento foi disposto em um delineamento completamente casualizado, com 320 repetições (cada planta contida na célula da bandeja foi considerada uma repetição) de cada população. As avaliações morfológicas realizadas nas plântulas estiveram sempre ligadas a um determinado estágio de desenvolvimento, descrito a seguir.

Foi mensurado, nas 320 plantas de cada população, o comprimento

do 1º e do 2º entrenós. As avaliações iniciaram-se no estádio em que as plantas apresentavam a primeira folha trifoliolada completamente expandida. As medições do comprimento do 1º entrenó corresponderam ao espaço caulinar dos cotilédones até a inserção da folha unifoliolada e a medição do comprimento do 2º entrenó corresponderam ao espaço caulinar da inserção da folha unifoliolada até a inserção da folha trifoliolada. Para essas medições utilizou-se régua graduada.

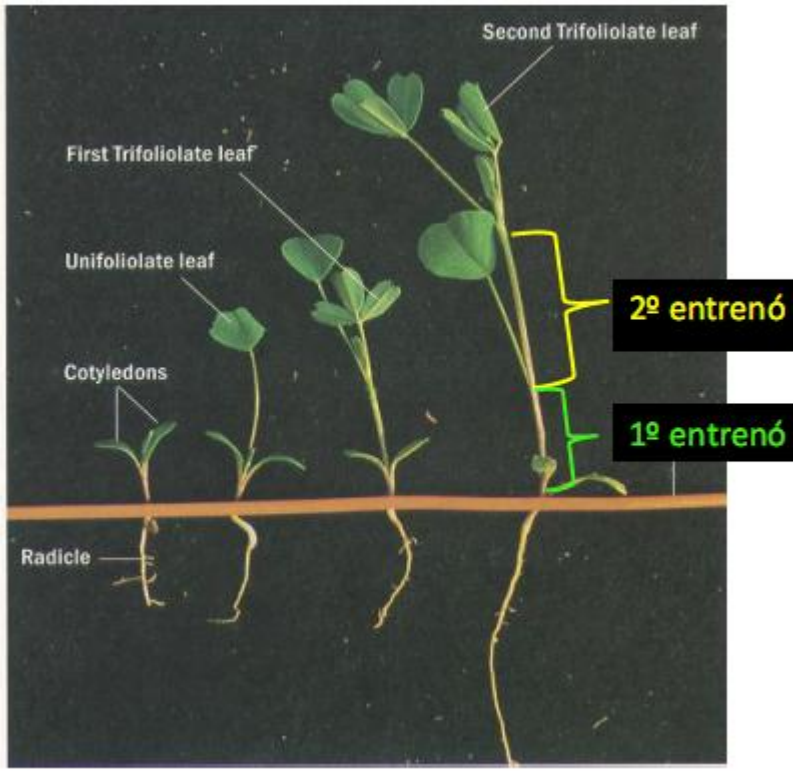


Figura 3. Localização dos 1º e 2º entrenós

Para a comparação das médias utilizou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade e a análise estatística foi realizada com o auxílio do software SAS.

3.2.3.2 Seleção de plântulas para tolerância ao pastejo

Com a obtenção dos dados da caracterização das populações descritas anteriormente, foi calculada a média, o desvio padrão e identificado o

valor mínimo de cada população. Foram então selecionadas as plantas que apresentavam o menor comprimento do 1º e do 2º entrenós dentro de cada uma das populações. Foi aplicada uma pressão de seleção de 7,8% e selecionaram-se as 25 plantas que apresentaram o menor comprimento do 1º entrenó e as 25 plantas que apresentaram o menor comprimento do 2º entrenó, totalizando uma seleção de 50 plantas por população.

Essas plantas foram retiradas das bandejas de isopor e transplantadas para vasos com substrato orgânico para promover o seu desenvolvimento, onde foram conduzidas até o florescimento, sendo cada população cruzada manualmente, por aproximadamente um período de 120 dias.

Durante todo o período experimental, a casa-de-vegetação recebeu iluminação artificial correspondendo a um fotoperíodo de 16 horas de luz com o objetivo de estimular e manter o florescimento das plantas.

Os legumes de cada população eram colhidos e acondicionados em sacos de papel, os quais eram levados à estufa de ventilação forçada (35ºC), por um período de 72 horas. Após a secagem, os legumes eram trilhados e as sementes submetidas a um processo de limpeza para posteriormente serem armazenadas separadamente por população, sendo mantidas em refrigerador a 4ºC.

As sementes obtidas através dos cruzamentos realizados constituíram as populações: ABT-805 F_1, Erechim F_1, Estrela F_1, POA F_1, SJI F_3, EC_1C_3, EC_1C_4 EC_2C_3 e EC_2C_4.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização de populações de alfafa em solução nutritiva com diferentes concentrações de alumínio

Houve efeito significativo entre as populações e as concentrações de Al em relação ao comprimento radicular das diferentes populações de alfafa assim como, entre as diferentes concentrações de Al. ($P<0,05$) (Tabela 1).

Na ausência de Al (0 µMol/L), o maior comprimento radicular, foi da população Solo, que não diferiu das populações EC_1F_1 e SJI. Por outro lado, os menores valores foram das populações Erechim e Estrela que não se diferenciaram. A população Solo que apresentou o maior comprimento radicular na ausência de Al, é uma população que já participa do programa de melhoramento de plantas para tolerância ao Al do Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da URFGS, assim como a população Solução (Caetano, 1998), embora tenham se diferenciado nesse nível. Ambas as populações, Solo e Solução, já possuem dois ciclos de seleção para tolerância ao Al utilizando metodologias diferentes: solo e solução nutritiva, respectivamente e já encontram-se em F_2.

A população EC_1F_1 que também apresentou um dos maiores comprimentos radiculares sem adição de Al, participa do programa de melhoramento de plantas para aptidão ao pastejo da UFRGS, e por ter apresentado resultados bastante significativos para esta característica também foi incluída neste experimento para tolerância ao Al para verificar o seu comportamento frente ao Al tóxico.

TABELA 1. Comprimento radicular médio (cm) de populações de alfafa (*Medicago sativa* L.) submetidas a diferentes concentrações de alumínio (µMol/L) em solução nutritiva. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2010.

	Concentrações de Al (µMol/L)						
População	0	3	6	12	24	48	Médias
SJI	A 5,61 ab	A 5,80 a	A 5,63 a	A 5,62 a	B 3,96 a	B 3,62 a	5,04
EC_1F_1	A 5,66 ab	A 5,03 ab	A 5,02 ab	A 5,05 a	B 4,03 a	C 1,94 b	4,45
Solo	A 5,76 a	B 4,72 b	C 3,53 cde	D 2,76 b	*	E 1,67 b	3,69
Solução	A 4,65 bc	A 4,58 b	A 4,17 bc	B 3,10 b	BC 2,33 bc	C 2,05 b	3,46
POA	A 4,68 abc	A 4,33 b	AB 3,7 cd	BC 2,77 b	C 2,56 b	C 1,90 b	3,32
Crioula (t)	A 4,41 c	A 4,78 b	B 3,50 cde	BC 3,10 b	CD 2,25 bc	D 1,63 b	3,28
Erechim	A 2,96 d	A 3,13 c	A 3,20 de	A 2,83 b	B 1,60 c	B 1,47 b	2,53
Estrela	A 3,62 cd	B 2,6 c	B 2,65 e	*	BC 1,97 bc	C 1,46 b	2,44
Médias	4,67	4,43	3,96	3,59	2,67	1,98	
% de redução	0,00	5,13	15,20	23,12	42,82	57,60	

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na linha, não diferem (P<0,05) pelo teste de Tukey.
Médias seguidas de letras minúsculas iguais na coluna, não diferem (P<0,05) pelo teste de Tukey.
*Dados faltantes. (t) testemunha

Já a população SJI é uma população Crioula que até o momento, nunca participou de qualquer processo de seleção, assim como as populações Erechim, Estrela e a POA.

As populações Crioulas POA, Erechim e Estrela nunca participaram de qualquer seleção para tolerância ao Al. Já a população EC_1F1 participa do programa de melhoramento para aptidão ao pastejo.

Sabe-se que o principal alvo da toxidez por alumínio em plântulas é o ápice radicular (Foy et al., 1978), e que a sensibilidade ao Al está intimamente ligada ao crescimento radicular (Samac & Tesfaye, 2003). No presente experimento, houve um decréscimo no comprimento radicular (CR) de todas as populações com a adição de Al. Na concentração 3 µMol/L, as populações que apresentaram os maiores comprimentos radiculares foram as mesmas populações que apresentaram os maiores comprimentos sem a adição de Al. Isso demonstra que embora o Al tenha afetado o sistema radicular, as populações SJI e ECF_1 apresentaram os maiores comprimentos radiculares nesta mesma concentração de Al. O ápice radicular acumula mais alumínio que outras porções da raiz (Kochian, 1995; Ciamporouvá, 2002). Desta forma, espécies mais tolerantes apresentam maior crescimento radicular que espécies sensíveis na presença do Al.

Algumas populações como Crioula, Erechim e SJI, na concentração 3 µMol/L de Al, tiveram um comprimento radicular maior quando comparadas com os comprimentos obtidos em solução nutritiva sem Al, no entanto este aumento não foi estatisticamente significativo. A literatura relata que o Al pode ter o efeito de promover o crescimento quando adicionado em pequenas concentrações (Foy, 1974).

A quantificação da tolerância ao Al através da avaliação do comprimento

radicular em soluções nutritivas é simples e muito utilizada devido à facilidade de predição da atividade do Al (Kinraide et al., 1985). Na avaliação do comprimento radicular em concentração de 6 µMol/L de Al, a maioria das populações apresentaram redução no comprimento radicular, mostrando que houve efeito do Al sob o desenvolvimento do sistema radicular. Neste nível, as populações que apresentaram o maior comprimento radicular foram SJI e ECF_1, que não diferiram entre si. Nesse nível, a população Estrela apresentou o menor comprimento, não diferindo das populações Erechim e cv.Crioula.

Na concentração 12 µMol/L de Al, os resultados mostram que os maiores comprimentos radiculares foram das populações SJI, EC_1F_1 que não se diferenciaram estatisticamente, seguidas de todas as outras populações.

As concentrações 24 µMol/L e 48 µMol/L de Al foram bem drásticas, impedindo grandemente o desenvolvimento das plantas devido aos danos causados ao sistema radicular, reduzindo o crescimento radicular de todas as populações em aproximadamente 57,6%. Nessas concentrações as populações que apresentaram os maiores comprimentos radiculares foram SJI e EC_1F_1. Na concentração 24 µMol/L de Al, essas populações não se diferenciaram, mostrando-se superiores as demais. Na concentração 48 µMol/L de Al, a população SJI apresentou o maior comprimento radicular, diferenciando-se das demais populações. Nessa concentração, a população EC_1F_1, apesar de ter apresentado o segundo maior comprimento radicular, não se diferenciou estatisticamente das demais populações.

Os efeitos da toxidez por Al foram percebidos de maneira proporcional

ao aumento das concentrações de Al, ocorrendo diminuição do comprimento radicular das populações estudadas. Esses resultados estão de acordo com trabalhos de pesquisa que demonstraram que o crescimento do sistema radicular é a característica mais afetada, tanto na susceptibilidade quanto na tolerância aos fatores de acidez do solo (Howeler & Cavadid, 1976), fato este comprovado no presente trabalho através da avaliação do comprimento radicular. Esses resultados corroboram também com o trabalho realizado por Martins et al. (2007), que, avaliando o efeito de doses crescentes de Al em solução nutritiva, observaram, com base nas características fenotípicas analisadas e nos resultados obtidos em cada característica, que o índice relacionado ao crescimento da raiz (CR) é o que melhor discrimina os materiais genéticos de alfafa estudados.

Com relação às concentrações de Al impostas, pode-se constatar que o crescimento radicular foi altamente influenciado pela concentração de Al da solução nutritiva. Quanto maior o teor de alumínio, menor foi o crescimento radicular (Tabela 1). De acordo com o comportamento das populações quanto ao comprimento radicular em relação às diferentes concentrações de Al, foi possível constatar que na concentração 3 µMol/L de Al, embora tenha ocorrido redução no sistema radicular de algumas populações, as médias foram bastante próximas das encontradas sem a adição de Al na solução nutritiva. Portando, analisando as plântulas fenotipicamente (CR), constatou-se que a concentração 3 µMol/L foi pouco tóxica, com pouca ação do Al sobre as plântulas. Já as concentrações 24 µMol/L e 48 µMol/L foram doses de Al bem altas, afetando drasticamente o sistema radicular.

No estudo realizado por Rocha et al. (2007), observou-se que a presença de Al influenciou significativamente o crescimento líquido da parte aérea e do sistema radicular (CR), reduzindo drasticamente quando se aplicou 8,2 µMol/L de Al em solução nutritiva, na média dos 17 genótipos de alfafa testados, comparado com o tratamento que não recebeu Al.

Os níveis mais baixos não chegam a separar os genótipos, enquanto que os mais altos (24 µMol/L e 48 µMol/L) mostram-se bastante drásticos, impedindo grandemente o desenvolvimento das plantas. Por outro lado, os níveis intermediários permitiram discriminar melhor os genótipos quanto à tolerância ao Al através de avaliações do comprimento radicular.

Considerando-se o termo “resistência” como sendo a capacidade das plantas em impedir ou retardar a entrada e/ou atividade de substâncias nocivas (Fry, 1982), e o termo “tolerância” como a capacidade das plantas em suportarem substâncias nocivas sem perdas severas em produtividade e qualidade (Cadwell et al., 1958), o presente estudo tem como objetivo, a seleção de plantas “tolerantes” ao Al e não “resistentes” ao Al. Portanto as concentrações 6 µMol/L e 12 µMol/L (intermediárias) foram as mais satisfatórias na discriminação dos genótipos de alfafa estudados.

A população EC_1F_1 não foi incluída em avaliações posteriores, por não possuir quantidade de sementes suficiente. Já as populações SJI, Solução e POA foram selecionadas para seguir sob avaliações para tolerância ao Al, não só pelo maior comprimento radicular, mas também por apresentarem uma superioridade em situações de toxidez por alumínio baixo e moderado.

4.1.1 Seleção em solução nutritiva

As populações selecionadas anteriormente (SJI, Solução e POA) foram cultivadas em solução nutritiva com uma concentração de 8 µMol/L de Al, concentração intermediária entre 6 µMol/L e 12 µMol/L de Al que foram eficientes na seleção das populações no experimento anterior.

Janke (2010) e Santos (2009), selecionando *Lotus corniculatus* para tolerância ao Al em solução nutritiva com diferentes concentrações de Al, também evidenciaram que existe uma concentração mais eficiente na discriminação dos genótipos. Em seus trabalhos com cornichão, ambos evidenciaram que a concentração 100 µMol/L de Al foi a mais satisfatória para a seleção. Segundo Blamey et al. (1990), espécies de *Medicago* mostram-se muito sensíveis, enquanto que *Lotus uliginosus* e *L. corniculatus* são mais tolerantes a concentrações moderadas de Al e baixo pH. Isso justifica as concentrações de Al mais baixas utilizadas para caracterização e seleção de plantas tolerantes ao Al em alfafa.

Após o 1º ciclo de seleção, as populações selecionadas apresentaram diferenças significativas ($P<0,05$) quanto ao comprimento radicular, assim como houve diferenças entre os ciclos de seleção (progenitores e progênie) (Figura 4).

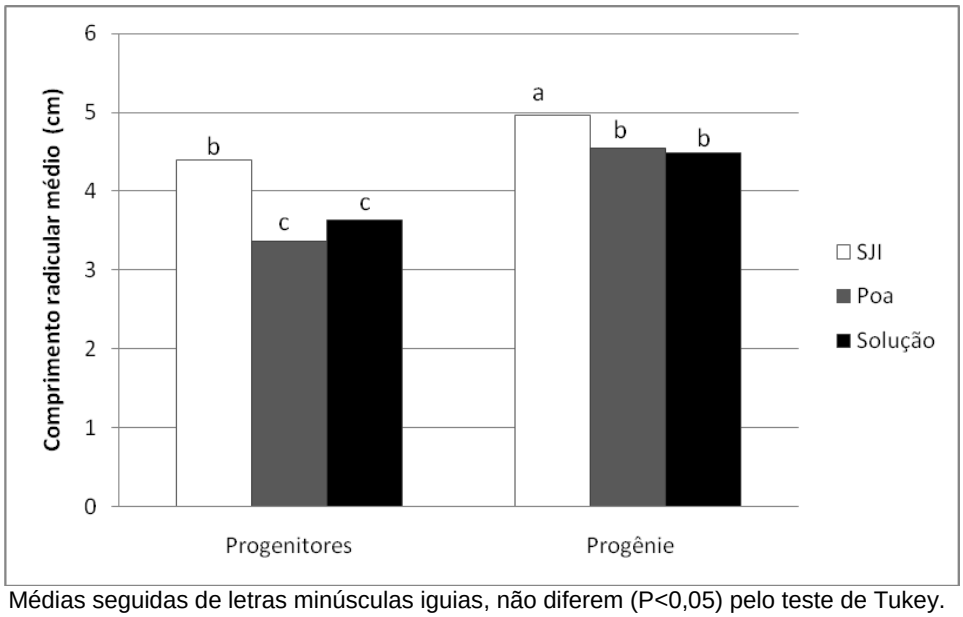
Na avaliação do comprimento radicular dos progenitores, a população SJI foi a que apresentou o maior comprimento radicular, com média de 4,40 cm enquanto que a população Solução e a população POA apresentaram 3,63 cm e 3,36 cm, respectivamente. No entanto, essas populações não diferiram estatisticamente. Entre as progênies, a população SJI foi a que apresentou os

maiores comprimentos radiculares em relação à Solução e a POA que não diferiram estatisticamente.

Pode-se verificar (Figura 4) que o comprimento radicular das progênies em relação a suas progenitores aumentou, havendo diferença significativa ($P<0,05$). A população SJI apresentou o maior comprimento radicular tanto dos progenitores como das progênies com 4,40 cm e 4,97 cm, respectivamente, havendo um aumento de 11,46% no comprimento radicular da progênie. Na população POA esse aumento foi de 26,15%, sendo que os progenitores apresentaram comprimento radicular de 3,36 cm, enquanto que as suas progênies apresentaram em média 4,55 cm. Com relação à população Solução, que já participa do terceiro ciclo de seleção, seus progenitores, que já estavam em F_2, apresentaram comprimento radicular de 3,63 cm e suas progênies apresentaram em média 4,48 cm, ou seja o aumento percentual do comprimento radicular foi de 18,97%.

A maior porcentagem do aumento do comprimento radicular foi da população POA (26,15%), provavelmente devido ao fato de que esta população nunca havia sofrido qualquer processo de seleção. Em geral, o que se espera de um material nunca melhorado anteriormente, é que ocorra um maior ganho nos primeiros ciclos de seleção, que pode ser explicado pela maior variabilidade existente em germoplasmas Crioulos. Já a população Solução teve o menor percentual no comprimento radicular (18,97%), e isso provavelmente ocorreu porque, ao longo das etapas de seleção, a variabilidade vai sendo reduzida e, desta maneira, torna-se mais difícil de ser explorada (Carvalho, et al., 2008).

As progênies da população SJI apresentaram a menor porcentagem do comprimento radicular em relação às demais populações (11,46%). Embora seja um germoplasma Crioulo, ou seja, não sofreu nenhum processo de seleção, o solo da região onde foi coletada, é um nitossolo e pode apresentar altos teores de Al e provavelmente isso tenha contribuído para um processo de seleção natural do material.



Médias seguidas de letras minúsculas iguias, não diferem (P<0,05) pelo teste de Tukey.

FIGURA 4. Comprimento radicular de três populações selecionadas para tolerância ao Al em dois ciclos de seleção, sob a concentração de 8 µMol/L de Al em solução nutritiva. Porto Alegre, UFRGS, 2010.

Essas respostas demonstraram que houve um progresso considerável em termos de tolerância, principalmente quando se avaliam os diversos fatores que envolvem esta característica em alfafa. Entre esses fatores envolvidos pode-se citar a alta sensibilidade da alfafa ao Al tóxico (Blamey et al., 1990) e também as características genéticas da planta, que é autotetraplóide, o que possibilita segregações complexas de alelos num locus simples, dificultando a herança de características com mais de um gene (Fehr, 1987), além da

condição alógama, que é outra dificuldade que se apresenta na fixação de características agronômicas.

De acordo com a literatura, existe ainda variabilidade genética para tolerância ao Al, dentro e entre as populações selecionadas. Segundo Buss et al. (1975), existe variabilidade suficiente em alfafa para selecionar plantas tolerantes ao Al. Campbell et al. (1994) relataram que a tolerância em alfafa é um fator parcialmente dominante em relação à sensibilidade. No entanto, devido aos vários alelos, decorrentes da autopoliploidia, a possibilidade de segregação em populações futuras é muito grande.

A utilização de cultivares capazes de desenvolverem-se e manterem-se em solos ácidos, com um mínimo necessário de calcário, apresenta-se como uma alternativa ambientalmente e economicamente sustentável. O maior comprimento radicular observado nas plantas tolerantes ao Al permite a possibilidade e maior absorção dos nutrientes além da camada arável e, também o acesso a água nas camadas mais profundas, durante o período de déficit hídrico. Ainda torna possível a redução dos gastos relacionados à correção do solo, durante a implantação e/ou manutenção da pastagem. Entretanto, esses materiais ainda devem ser testados em condições de campo, visando um conhecimento mais profundo do comportamento das populações tolerantes em condições reais de utilização.

4.2 Caracterização e seleção precoce de alfafa para aptidão ao pastejo através de marcadores morfológicos

Houve efeito significativo dos tratamentos (genótipos) sobre as

características morfológicas avaliadas (Tabela 2).

Em relação ao comprimento do 1º entrenó, a população São José do Inhacorá – SJI e a cv. ABT-805, apresentaram os menores comprimentos médios (0,265 cm e 0,289 cm, respectivamente). Embora a população SJI seja uma população Crioula, essa resposta provavelmente deve-se ao fato de que a mesma foi submetida a três anos consecutivos de pastejo, fato que pode ter favorecido a sobrevivência de plantas com maior aptidão ao pastejo. A cv. ABT-805, é uma cultivar norte americana considerada com aptidão ao pastejo, motivo pelo qual foi utilizada como testemunha neste experimento.

TABELA 2. Comprimento médio do 1º e 2º entrenó (cm) de plântulas de alfafa para seleção de tolerância ao pastejo.UFRGS, Porto Alegre, RS, 2010.

Populações	Comprimento do 1º entrenó	Comprimento do 2º entrenó
Estrela	0,606 a	1,793 a
Poa	0,565 ab	1,746 ab
Erechim	0,539 b	1,692 b
EC_2C_3	0,474 c	1,007 de
EC_2C_2	0,350 d	1,179 c
EC_1C_2	0,331 de	0,937 ef
EC_1C_3	0,311 de	0,912 f
ABT-805 (t)	0,289 ef	1,070 d
SJI	0,265 f	1,160 c
Média	0,414	1,277

Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes são significativamente diferentes (P<0,05) pelo teste de Tukey.

Após a população SJI e cv. ABT as populações que apresentaram os

menores comprimentos do 1º entrenó foram as populações que já participam do programa de melhoramento para aptidão ao pastejo realizado pelo Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da UFRGS, sendo elas: EC_1C_3, EC_1C_2, EC_2C_2, que não se diferenciaram significativamente ($P<0,05$) entre si. Já a população EC_2C_3 diferenciou-se das demais populações melhoradas apresentando o maior valor médio do comprimento do 1º entrenó em relação as populações citadas anteriormente.

As populações melhoradas correspondem ao segundo (C_2) e terceiro ciclo de seleção (C_3) para aptidão ao pastejo, utilizando o marcador morfológico comprimento dos entrenós curtos (EC) como método de seleção. Entre as populações melhoradas, os resultados mostraram que os genótipos EC_1C_2 e EC_1C_3, apesar de não se diferenciarem de outras populações melhoradas, apresentaram valores numericamente menores do que a média do comprimento do primeiro entrenó (EC_1). Já as populações EC_2C_2 e EC_2C_3 apresentaram numericamente um maior valor para comprimento do primeiro entrenó entre as populações melhoradas talvez pelo fato de terem sido selecionadas quanto ao comprimento do segundo entrenó (EC_2). Por outro lado, as populações Estrela, POA e Erechim apresentaram o maior comprimento do 1º entrenó em relação às demais. Essas três últimas populações citadas são populações Crioulas coletadas em diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul, utilizadas para a produção de feno e que, portanto, não passaram por nenhum processo de seleção para aptidão ao pastejo até o momento.

Os valores médios dos entrenós foram de 0,414 cm para 1º entrenó e 1,277cm para o 2º entrenó. Perez (2003) encontrou valores médios de 1,45cm para o comprimento do 1º entrenó e 5,74 cm para o comprimento do 2º entrenó, avaliando populações de alfafa Crioula. Já Secco (2006) encontrou valores de 2,0 cm e 2,6 cm para 1º e 2º entrenó, respectivamente. Já no trabalho realizado por Brandoli (2009), o valor encontrado para o 1º entrenó foi 1,4 cm e para o 2º entrenó, 2,0 cm. As diferenças entre os dados encontrados de comprimento de 1º e 2º entrenós, talvez possam ser atribuídas a diferentes intensidades de luz artificial, luz natural e as diferentes temperaturas observadas entre os diferentes locais.

Trabalhos realizados com o comprimento do 1º entrenó ainda no estágio de plântula permitem separar genótipos com aptidão ao pastejo, possibilitando seu uso como marcador morfológico para a detecção precoce da aptidão ao pastejo (Perez, 2003; Brandoli, 2009). Isso também pode ser evidenciado com os dados obtidos neste experimento, pois a cv. ABT-805, utilizada como testemunha e que comprovadamente possui aptidão ao pastejo, apresentou o segundo menor comprimento do 1º entrenó. De acordo com resultados obtidos, pode-se evidenciar que a população SJI, além das populações que já vem sendo melhoradas, podem ser consideradas bastante promissoras para futuros trabalhos de melhoramento genético de alfafa.

Plântulas que apresentam um pequeno comprimento do 1º entrenó podem resultar na obtenção de plantas com hábito de crescimento prostrado, o que permite uma menor remoção de meristemas, e a manutenção da área

foliar residual capaz de manter as exigências metabólicas das mesmas, principalmente quando em estágio de plantas jovens, após o pastejo ou corte (Gastal & Durand, 2000). Os resultados encontrados neste experimento com relação ao comprimento do 1º entrenó corroboram com os resultados encontrados por Perez (2003) e Brandoli (2009), que evidenciaram que as plântulas que apresentavam menor comprimento do 1º entrenó foram as que se mostraram mais persistentes quando submetidas a cortes drásticos e freqüentes que simulavam um pastejo intenso.

Quanto ao comprimento do 2º entrenó (Tabela 2), a população EC_1C_3 foi a que apresentou o menor comprimento não diferindo da EC_1C_2 seguidas pela população EC_2C_3 e pela testemunha, ABT-805. As populações Crioulas (Estrela, POA e Erechim) apresentaram os maiores comprimentos do 2º entrenó respectivamente, assim como ocorreu com as médias do comprimento do 1º entrenó.

Embora até o momento o comprimento do 2º entrenó não tenha sido indicado especificamente como sendo um marcador morfológico promissor, existem indícios de que as plantas que possuem menor comprimento dos entrenós, provavelmente possuam maior aptidão ao pastejo quando comparadas com as plantas de entrenós mais longos (Brandoli, 2009). A partir disso, os resultados deste trabalho mostram que as populações que apresentaram o menor comprimento do 1º entrenó não foram as mesmas que apresentaram o menor comprimento do 2º entrenó (R^2 0,38 – Apêndice 5). No entanto, a população SJI e as populações que já participam do programa de

melhoramento (EC_2C_3, EC_2C_2, EC_1C_2, EC_1C_3), além da testemunha (ABT-805), foram as que apresentaram o menor comprimento dos entrenós, quando comparadas com as populações que nunca participaram de nenhum processo de seleção, como as populações Crioulas (Estrela, Poa e Erechim).

Para representar a distribuição das plântulas das populações melhoradas e testemunha, de acordo com o comprimento do 1º entrenó (Figura 5), foram estabelecidas quatro intervalos de comprimento (cm): I (0,0 – 0,2 cm), II (0,3 – 0,4 cm), III (0,5 – 0,6 cm) e (0,7 - 0,8 cm). A Figura 5, mostra que a maior concentração de plântulas das populações EC_1C_2 e EC_1C_3, apresentaram com aproximadamente 0,2 cm, sendo essas bastante semelhantes à testemunha (cv. ABT-805). Já as populações EC_2C_2 e EC_2C_3, não se apresentam da mesma maneira, com a maior concentração das plântulas situando-se entre 0,3 e 0,4 cm.

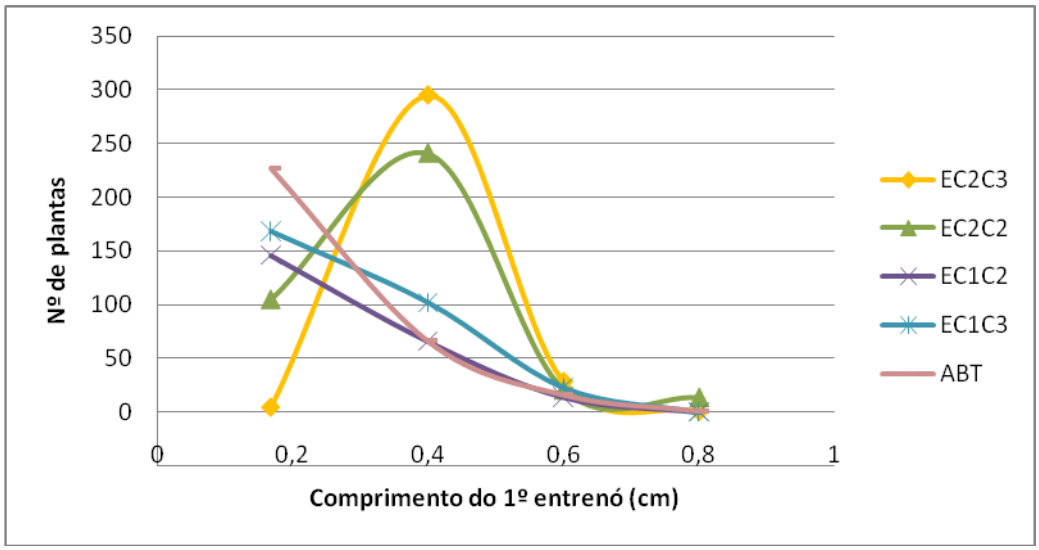


FIGURA 5. Distribuição do número de plântulas em relação ao comprimento do 1º entrenó das populações que já participam do programa de melhoramentoda UFRGS (EC_2C_3, EC_2C_2, EC_1C_2, EC_1C_3) e testemunha (ABT-805). URFGS, Porto Alegre, RS, 2010.

Embora tenha sido significativa a correlação entre o comprimento do 1º e 2º entrenó (Apêndice 5), o seu baixo valor apresenta um reduzido significado biológico, pois apenas um pequeno percentual, das plantas que apresentaram os menores comprimentos do primeiro entrenó também tiverem o segundo entrenó também menores. Isso é importante, porque quer dizer que essas características estão fracamente ligadas, ou seja, quando seleciona-se para uma não se está automaticamente selecionando para a outra. Também significa que se esses marcadores morfológicos são independentes, o valor como parâmetro de seleção pode ser diferente.

Brandoli (2009), trabalhando com uma população Crioula que deu origem as populações EC (entrenó curto) encontrou para o comprimento do 1º entrenó uma média de 0,4 cm e após dois ciclos de seleção, a média do comprimento do 1º entrenó mudou para 0,3 cm, indicando que o processo de seleção teve sucesso e que ainda havia uma grande variabilidade dentro deste germoplasma para esta característica.

Entre as populações melhoradas, a EC_1C_2 e a EC_1C_3 mostram-se promissoras à aptidão ao pastejo utilizando o marcador morfológico comprimento do 1º entrenó, pois as plântulas apresentaram uma distribuição bastante semelhante à cv. ABT-805 utilizada como testemunha, que comprovadamente possui aptidão ao pastejo.

Para representar a distribuição das plântulas das populações Crioulas (Estrela, Erechim, POA e SJI) em relação a testemunha ABT-805, de acordo com o comprimento do 1º entrenó (Figura 6), foram estabelecidas quatro

intervalos de comprimento (cm): I (0,0 – 0,3 cm), II (0,4 – 0,7 cm), III (0,8 – 1,0 cm) e (1,3 – 1,5 cm).

Na Figura 6, pode ser observado que a população SJI apresentou uma curva de distribuição semelhante a da testemunha ABT-805, apresentando uma concentração na faixa dos menores valores (0,2 cm). As populações POA, Erechim e Estrela possuem curvas de distribuição próximas entre sí, variando de 0,4 a 0,8 cm, demonstrando a grande variabilidade que existe dentro do germoplasma Crioulo em relação a essa característica. Além disso, as populações Crioulas, ou seja, não selecionadas para a aptidão ao pastejo, apresentaram curvas diferentes das demais populações (populações melhoradas e testemunha) e bastante semelhantes entre si.

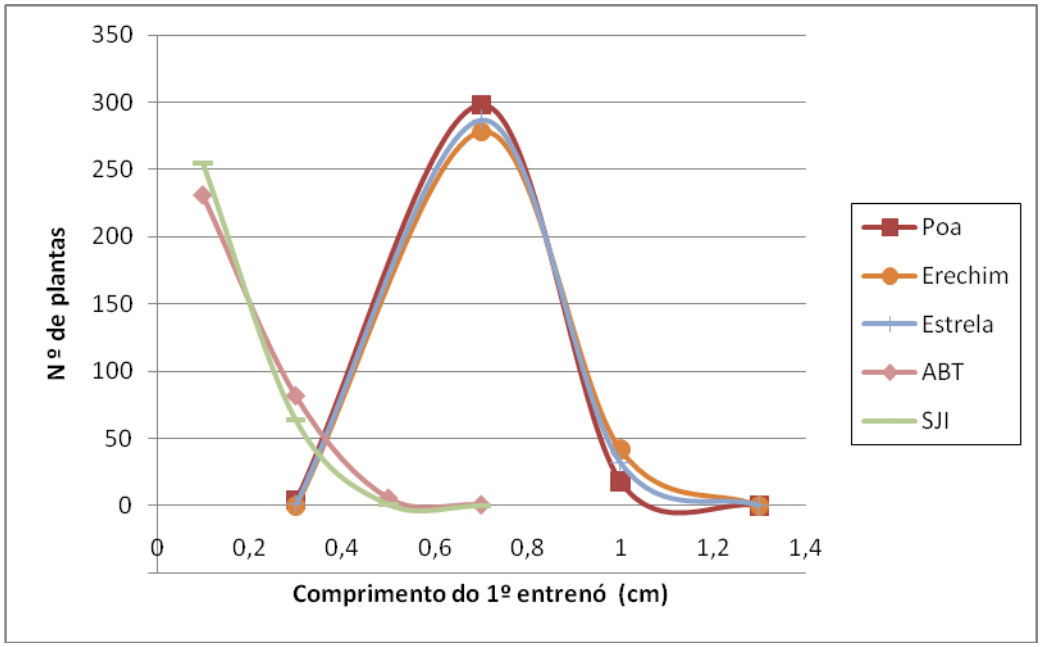


FIGURA 6. Distribuição do número de plantas em relação ao comprimento do 1º entrenó das populações Crioulas (Estrela, Erechim, Poa e SJI) e a testemunha cv. ABT-805. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2010.

Secco (2006), também avaliando populações de alfafa Crioula encontrou

a maior freqüência (12%) entre 0,7 a 1,4 cm. Por outro lado, Brandoli (2009) também encontrou a maior freqüência de plântulas nos mesmos comprimentos utilizados por Secco (2006), porém com freqüência de 38,5% das plântulas avaliadas.

As populações melhoradas e a Crioula SJI apresentam o comprimento do 1º entrenó bastante reduzido, indicando provavelmente que essas populações possuem aptidão ao pastejo, além de serem adaptadas às condições ambientais do sul do Brasil.

Para representar a distribuição das plântulas populações melhoradas (EC_1C_2, EC_1C_3, EC_2C_2 e EC_2C_3) e das populações Crioulas (Erechim, Estrela, Poa e SJI) em relação a testemunha ABT-805 de acordo com o comprimento do 2º entrenó (Figuras 7 e 8) foram estabelecidas quatro intervalos de comprimento (cm): I (0,0 – 0,6 cm), II (0,7 – 1,3 cm), III (1,4 – 2,1 cm) e (2,2 - 2,9 cm).

Quanto ao comprimento do 2º entrenó, entre as populações melhoradas (Figura 7), as populações EC_1C_2, EC_2C_2 e EC_2C_3 apresentaram a maior distribuição das plântulas com menores comprimentos do 2º entrenó, fato que nas populações EC_2C_2 e EC_2C_3 já era esperado pois foram selecionadas para essa característica.

Brandoli (2009) também avaliou o comprimento do 2º entrenó das populações EC e encontrou valor médio de 1,3 cm, enquanto que para a população SJI encontrou valor médio de 1,59 cm.

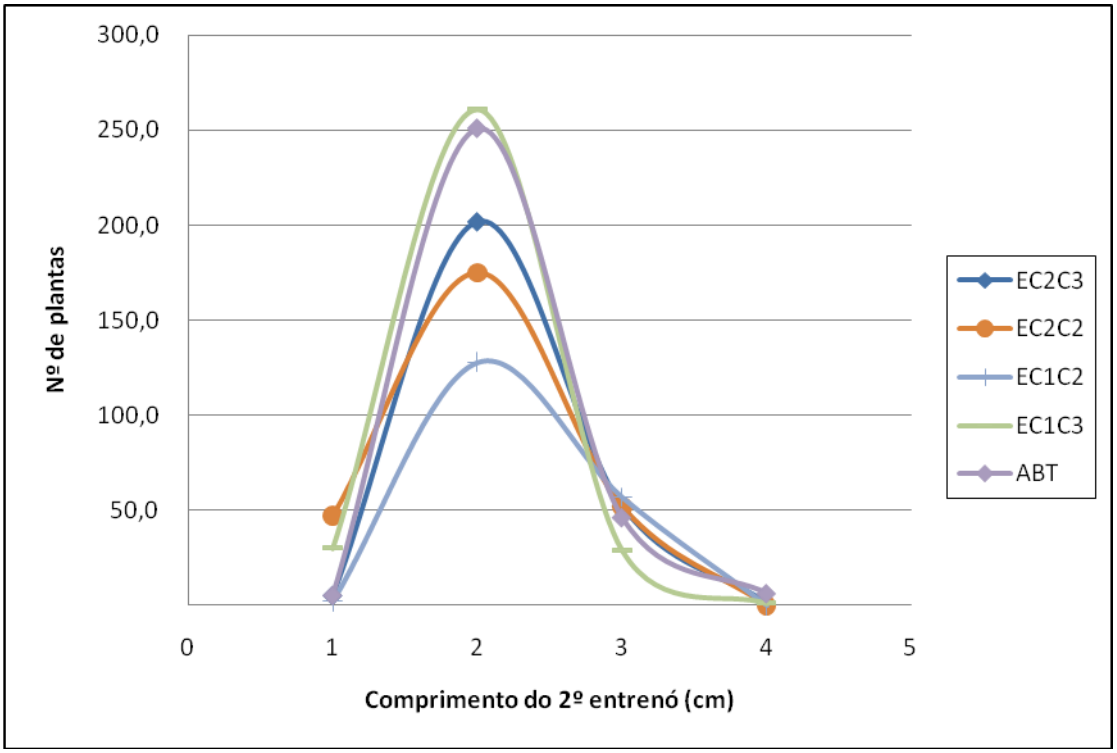


FIGURA 7. Distribuição do número de plântulas em relação ao comprimento do 2º entrenó das populações que já participam do programa de melhoramento da UFRGS (EC_2C_3, EC_2C_2, EC_1C_2, EC_1C_3) e testemunha (cv. ABT-805). UFRGS, Porto Alegre, RS, 2010.

As curvas de distribuição das plântulas das populações Crioulas em relação à testemunha (ABT-805) quanto ao comprimento do 2º entrenó (Figura 8) mostram mais uma vez que a população SJI apresentou distribuição semelhante à cv. ABT-805. Já as populações Estrela, Erechim e POA apresentam o maior número de plântulas praticamente nas mesmas freqüências, porém com comprimentos do 2º entrenó maiores que a SJI e a ABT-805.

A maior concentração de plântulas quanto ao comprimento do 2º entrenó das populações Crioulas variou entre 1,5 e 2,5 cm (Figura 8). Secco (2006) e Brandoli (2009) também avaliaram o comprimento do 2º entrenó de populações Crioulas e encontraram a maior freqüência de plântulas entre os comprimentos

2 a 2,5 cm e 2,6 a 5,8 com freqüências de 55,4% e 12%, respectivamente.

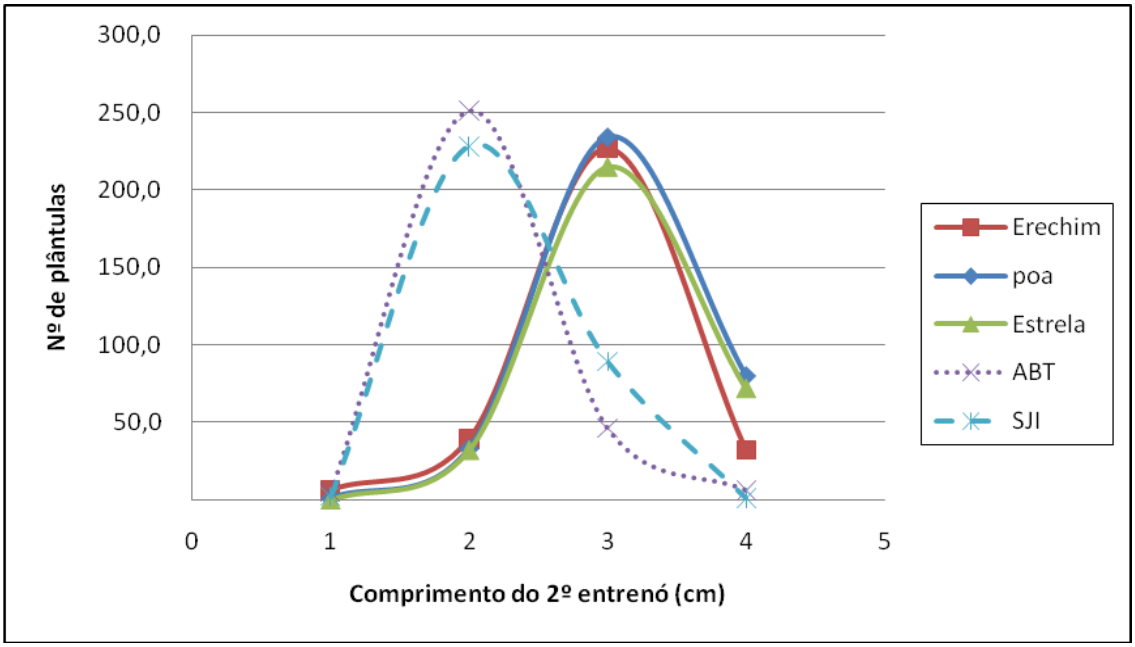


FIGURA 8. Distribuição do número de plântulas em relação ao comprimento do 2º entrenó das populações das populações Crioulas (Estrela, Erechim, Poa e SJI) e a testemunha cv. ABT-805. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2010.

Os resultados evidenciaram que as populações melhoradas e a testemunha (ABT-805) apresentaram os menores valores, tanto para o comprimento do 1º entrenó, como para o comprimento do 2º entrenó, mostrando-se semelhantes entre si. Já as populações Crioulas apresentaram os maiores valores para o comprimento dos entrenós, indicando a variabilidade existente nos germoplasmas Crioulos.

A distribuição das plântulas dentro de cada população quanto ao comprimento dos entrenós mostrou os diferentes picos de cada população, o que já havia sido indicado pelas médias distintas dos materiais (Tabela 2) e coloca em evidência a presença de indivíduos mais homogêneos nas populações que já passaram por alguns ciclos de seleção (populações

melhoradas e testemunha) e a presença de indivíduos mais heterogêneos nas populações Crioulas (Erechim, POA e Estrela).

Após essas avaliações, para dar continuidade ao processo de seleção, foram selecionadas as 25 plântulas de cada população que apresentaram o menor comprimento do 1º entrenó e selecionadas também as 25 plântulas que apresentaram o menor comprimento do 2º entrenó, totalizando uma seleção de 50 plantas de cada população.

Uma análise do comprimento 1º entrenó das 25 plântulas e do comprimento do 2º entrenó das 25 plântulas selecionadas das nove populações estudadas revelam que houve diferença ($P<0,05$) entre as populações para as características avaliadas (Tabela 3).

Em relação ao comprimento do 1º entrenó, a população EC_1C_2 foi a que apresentou o menor comprimento, seguida das populações SJI, ABT-805 (testemunha) e as populações melhoradas (EC_1C_3 e EC_2C_2), que não diferiram estatisticamente.

As populações Crioulas (Estrela, Erechim e POA) apresentaram os maiores comprimentos, respectivamente, sendo que a primeira diferiu de todas as outras. Esses resultados corroboram com os resultados encontrados por Secco (2006), que também encontrou diferenças significativas entre uma população de alfafa Crioula e população ABT-805 quanto á mesma característica, sendo que a alfafa Crioula apresentou maior comprimento do 1º entrenó do que a ABT-805.

Quanto ao comprimento do 2º entrenó (Tabela 3), as populações EC_1C_2, EC_1C_3, testemunha (cv. ABT-805) e EC_2C_3, apresentaram os menores comprimentos do 2º entrenó, se diferenciando das demais populações e não diferenciando entre si. No entanto, essas duas populações (EC_1C_2 e EC_1C_3) foram melhoradas utilizando o marcador morfológico – comprimento do 1º entrenó.

TABELA 3. Comprimento médio do 1º e 2º entrenós (cm) das 25 plântulas de nove populações de alfafa selecionadas para aptidão ao pastejo. Porto Alegre, UFRGS, 2010.

Populações	Comprimento 1º entrenó	Comprimento 2º entrenó
Estrela	0,436 a	1,176 ab
Erechim	0,400 b	1,100 b
Poa	0,384 b	1,200 a
EC_2C_3	0,164 c	0,616 d
EC_2C_2	0,128 d	0,724 c
EC_1C_3	0,108 d	0,600 d
ABT	0,104 d	0,612 d
SJI	0,100 d	0,700 c
EC_1C_2	0,052 e	0,600 d

Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes são significativamente diferentes (P<0,05) pelo teste de Tukey.

Logo após as populações citadas anteriormente, as populações SJI e EC_2C_2 apresentaram a menor média do comprimento do 2º entrenó, não diferindo estatisticamente entre si. Já as populações Crioulas POA, Estrela e Erechim apresentaram os maiores comprimentos do 2º entrenó, respectivamente. Observando a distribuição desses materiais de alfafa Crioula

em relação ao comprimento de entrenós, pode-se verificar a grande variabilidade genética existente para os caracteres morfológicos avaliados.

Neste experimento também foi possível observar que os marcadores morfológicos ainda no estágio de plântulas, principalmente o marcador morfológico de comprimento do 1º entrenó, foram bastante eficientes na discriminação dos genótipos quanto à aptidão ao pastejo. Perez (2003) e Brandoli (2009) revelaram a eficiência dos marcadores morfológicos de comprimento do 1º e 2º entrenó curto para serem utilizados no melhoramento genético de alfafa para aptidão ao pastejo. Brandoli (2009) comentou também, que comprimento do 1º entrenó é o marcador morfológico que possui maior possibilidade de utilização na seleção precoce de plantas com aptidão ao pastejo, pois apresenta dados semelhantes à cultivar padrão de aptidão ao pastejo e recomendada nos protocolos de avaliação para a seleção de plantas tolerantes ao pastejo (ABT-805). No presente estudo, o comprimento do 1º entrenó também se mostrou mais eficiente na distribuição de plantas quanto à aptidão ao pastejo.

5. CONCLUSÕES

A seleção em solução nutritiva mostra-se eficiente na obtenção de materiais com maior tolerância ao alumínio, principalmente nas concentrações 6 µMol/L e 12 µMol/L de alumínio, com 100 µMol/L de cálcio.

Os genótipos de alfafa que mostram maior tolerância ao alumínio foram olução, São José do Inhacorá (SJI) e Porto Alegre (POA).

O marcador morfológico comprimento do 1º entrenó curto é o que apresenta maiores possibilidades de discriminar precocemente os genótipos contrastantes para aptidão ao pastejo.

Além do germoplasma Crioulo São José do Inhacorá (SJI), os genótipos que apresentaram indicativos de maior aptidão ao pastejo foram os que já participam do Programa de Melhoramento Genético de Plantas Forrageiras do DPFA (EC_1C_2 e EC_1C_3). Com dois e três ciclos de seleção para a característica de menor comprimento do 1º entrenó, foi possível identificar progresso ou ganho genético na seleção de germoplasmas de alfafa através da utilização desse tipo de marcador morfológico.

6. REFERÊCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFAFA. **La alfafa**. Disponível em: <http://www.latour.com.ar/alfafa.htm>. Acesso em: 24 nov. 2010.

ALLARD, R. W. **Princípios do melhoramento genético de plantas**. São Paulo: Edgard Blucher, 1971. p. 381.

ALMEIDA, M. P. L. O. et al. **Considerações gerais sobre a toxicidade do alumínio nas plantas**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPS, 1997. 22 p.

BAHIA FILHO, A. F. C. et al. Identification, utilization and economic impacto f maize germaplasma tolerant to low levels of phosphorus and toxic levels of exchangeable aluminum in Brazilian soils. In: PLANT SOIL INTERACTION AT LOW PH: SUSTENABLE AGRICULTURE AND FORESTY PRODUCTION, 1997, Belo Horizonte. **Anais…** Belo Horizonte: SBCS, 1997. p. 59-72.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C.; VÁZQUEZ, M. D. Aluminum phytotoxicity. **Fertilizer Research**, The Hague, v. 43, p. 217-223, 1996.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminum toxicity and resistance: a review. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 48, n. 1, p. 75-92, 2002.

BARNES, D. K., SHEAFFER, C. C., Alfafa. In: BARNES, R. F.; MILLER, D. A.; NELSON, C. J. (Eds.) 5. ed. **Forages**: an introduction to grassland agriculture. Ames, Iowa : Iowa State University Press, 1995. v. 1. p. 206-215.

BARNES, D. K.; GOLPEN, B. P.; BAYLOR, J. E. Highlights in the USA and Canada. In: HANSON, A. A.; BARNES, D. K.; HIIL, R. R. (Ed.). **Alfalfa and alfalfa improvement**. Madison: American Society of Agronomy, 1988, p. 1-24.

BATES, J. S. et al. Plant persistence and animal performance for continuously stocked alfalfa pasture at three forage allowances. **Journal of Production Agriculture**, Madison, v. 9, 1996, p. 418-423.

BECKMANN, I. Sobre o cultivo e melhoramento do trigo (*Triticum vulgare* Vill) no sul do Brasil. **Agronomia Sulriograndense**, Porto Alegre, v. 1, n. 1, p. 64-72, 1954.

BENNET, R. J.; BREEN C. M. The aluminum signal: new dimensions to mechanisms of aluminum tolerance. **Plant Soil**, The Hague, v. 134, p. 153-166, 1991.

BEUSELINCK, P. P.; BOUTON, J. H.; LAMP, W. O. et al. Improving legume persistence in forage crop systems. **Journal of Production Agriculture**, Madison, v. 7, p. 287-332, 1994.

BLAHA, L. et al. Influence of low pH and aluminum ions on the nutrient uptake and growth in juvenile phase of cereal cultivars. **Scientia Agriculturae Bohemica**, Prague v. 28, p. 81-94, 1997.

BLAMEY, F. P. C.; EDMEADES, D. C.; WHEELER, D. M. Role of root cation-exchange capacity in differential aluminum tolerance of Lotus species. **Journal Plant Nutrition**, Suchdol, v. 13, p. 729-744, 1990.

BOHNEN, H. Acidez e calagem. In: GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; TEDESCO, M. J. **Princípios de fertilidade de solo**. Porto Alegre: Departamento de Solos da UFRGS, 1975. p. 51-76.

BOHNEN, H.; MEURER, E. J.; BISSANI, C. A. Solos ácidos e solos afetados por sais. In: MEURER, E.J. (Ed.) **Fundamentos de química do solo**. 3. ed. Porto Alegre: Genesis, 2006. p.163-180.

BORÉM, A.; MIRANDA G. V. **Melhoramento de plantas**. (Eds.) 5. ed. Viçosa: UFV, 2009. 529 p.

BOTREL, M. A. et al. Cultivares de alfafa em área de influência da Mata Atlântica no Estado de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, p. 1437-1442, 2001.

BOUTON, J. H. Alfalfa. Dept. of Crop and Soil Sciences, 3111 **Plant Sciences Building**, Athens. University of Georgia, Athens, 2001.GA, 30602-7272, USA.

BOUTON, J. H. Desenvolvimento de cultivares de tolerantes ao alumínio e a acidez do solo. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 16 Piracicaba, 1999. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1999. P.47-66.

BOUTON, J. H. et al. Registration of ‘Alfagraze’ alfalfa. **Crop Science**, Madison, v. 31. p. 479, 1991.

BRANDOLI, M. A. A. **Utilização de marcadores morfológicos para a seleção precoce de alfafa com aptidão ao pastejo e avaliação da fixação biológica de nitrogênio.** 2009. Dissertação (mestrado) Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Plantas Forrageiras – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

BRISKE, D. D. Strategies of plant survival in grazed sistems: a funtional interpretation. In: **The ecology of grazing systems**. London : Cab International, 1996.

BRUMMER, E. C.; BOUTON, J. H. Plant traits associated with grazing- tolerant alfalfa. **Agronomy Journal**, Madison. v. 83, p. 996-1000, 1991.

BUSS, G. R., J.A. LUTZ JR. & HAWKINS, G. W. Yield response of alfalfa cultivars and clones to several pH levels in Tatum subsoil. **Agronomy**. **Journal**. Madison. 67: 331-334, 1975.

CAETANO, J. H. S. **Seleção de alfafa para solos ácidos.** Porto Alegre, RS, 1998. 119 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1998.

CAETANO, J. H. S.; DALL'AGNOL, M.; MEURER, E. J. et al. Seleção de alfafa (*Medicago sativa*) para solos ácidos. **Revista Científica Rural**. Bagé. v. 7, p. 6-15, 2002.

CALDWELL. R. M. et al. The tolerance in plant. **Crop Science.** Madison. 128:415. 1958.

CAMPBELL T. A.; JACKSON P. R.; XIA Z. L. Effect of aluminum stress on alfalfa root proteins. **Journal Plant Nutrition**. New York. 17:471–1994

CARADUS, J. R. Breeding temperate forage legume for tolerance to aluminum toxic and low phosphorus soils. In: REUNIÃO DO GRUPO TECNICO REGIONAL DO CONE SUL EM MELHORAMENTO E UTILIZAÇÃO DOS RECURSOS FORRAGEIROS DAS ÁREAS TROPICAIS E SUBTROPICAIS, 11. 1989, Lages. **Anais...** Lages. 1989. p. 76-126.

CARVALHO, F. I. F.; LORENCETTI, C.; MARCHIORO, V. S. et al. **Condução de populações no melhoramento genético de plantas.** 2ed. Pelotas, Rs: UFPel Editora Universitária, 2008. p. 288.

CARVER, B. F.; OWNBY, J. D. Acid soil tolerance in wheat. Advances in **Agronomy**, Madison, v. 54, p. 117-173, 1995.

CIAMPOROUÁ, M. Morphological and structural responses of plant roots to aluminum at organ, tissue, and cellular levels. **Biologia Plantarum**, Czech Republic, v. 45, n. 2, p. 161-171, 2002.

CLARKSON, D. T. The effect of aluminum and other trivalent metal cations on cell division in the root apices of *Allium cepa*. **Annals of Botany**, Oxford. 29: 309-15. 1965.

COUNCE, P. A.; BOUTON, J. H.; BROWN, R. H. Screening and characterizing of alfalfa for persistence under mowing and continous grazing. **Crop Science**,

Madison, v.24, p.282-285, 1984.

CRESTANI, M.; et al. Estresse por alumínio em genótipos de aveia preta em condição hidropônica. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 3, p. 639-649, 2009.

DAL POZO IBAÑEZ, M. **La alfalfa, su cultivo y aprovechamiento**. 2. ed. revisada y aplicada por Miguel Ibañez Gamborino. Madrid, España: Ediciones Mundi-Prensa, 1977. p. 379

DALL'AGNOL, M.; DIAS, P. M., MONTARDO, D. P.; PEREZ, N. B. Plant breeding and biotechnology in temperate species in Southern Brazil, In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF FORAGE BREEDING, 2007, Campo Grande, MS. **Proceedings…**Campo Grande: Embrapa gado de Corte, 2007. 1 CD-ROM.

DEGENHARDT, J. et al. Aluminum resistance in the Arabidopsis mutant alr-104 is caused by an aluminum-induced increase in rhizosphere pH. **Plant Physiology**, Rockville, v.117, n.1, p.19-27, 1998.

DELHAIZE, E. et al. Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). I. uptake and distribution of aluminum in root apices. **Plant Physiology**, Rockville, v. 103, n. 3, p. 685-693, 1993.

DELHAIZE, E.; RYAN, P.R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. **Plant Physiology**, Rockville. v. 107, p. 315-321, 1995.

DEVINE, T. E. et al. Development of alfalfa strains with different tolerance to aluminum toxicity. **Plant & Soil**. New York. 44, 73–79.

DOUGHERTY, C. T. Grazing alfalfa: a Kentucky perspective. National alfalfa symposium, **Proceeding…** Springfield, Illinois. 1998, p. 95-103.

ECHART, C. L.; CAVALLI-MOLINA, S. Fitotoxicidade do alumínio: efeitos, mecanismo de tolerância e seu controle genético. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 531-541, 2001.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Yield and yield components of lowland rice as influenced by timing of nitrogen fertilization. **Journal of Plant Nutrition**, New York. v. 22, p. 23-32, 1999.

FÁVERO, D. **Morfologia comparada de populações de alfafa de diferentes hábitos de crescimento**. 2006. 110 f. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós – Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2006.

FAVERO, D.; SCHIFFER-BASSO, S.M.; CARNEIRO, C. M. Morphological development of Alfagraze cultivar and Crioula alfalfa population selected at the seedling stage. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 4, p. 605-

610, 2009.

FEHR, W. R. **Principies of cultivar development**. New York: McGraw-Hill, Ine. 1987. v. 1. 536p.

FERRAGINE, M. D. C. et al. Produção estacional, índice de área foliar e intercepção luminosa de cultivares de alfafa sob pastejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v 39, n.10, p. 1041-1948, out.2004

FERREIRA, R. et al. Adaptabilidade e estabilidade em cultivares de alfafa (Medicago sativa L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 3, p. 743-755, jul./set. 2000.

FERREIRA, R. de P.; PEREIRA, A. V. Melhoramento de forrageiras. In: BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999. p. 649-677.

FERREIRA, R. P.; BOTREL. M. A., PEREIRA, A. V.; CRUZ, D. C. Avaliações de cultivares de alfafa e estimativas de repetibilidade de caracteres forrageiros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n.1, p.995-1002, 1999.

FERREIRA, R. P.; PEREIRA, A. V. Melhoramento de forrageiras. In: BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 2005. 969 p.

FISCHER, R. G.; SAIBRO, J. C.; JACQUES, A. V. A. Métodos de semeadura de alfafa em cultivo estrema e de sua consorciação cm *Paspalum guenoarum Arech*, submetidas a duas frequancias e duas alturas de corte. Revista da **Sociedades Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 13, n. 2, p. 179-190, 1984

FOY C.D., Effect of aluminum on plant growth, in: Carson E.W. (Ed.), **The Plant Root and its Environment**, Charlottesville, Univ. Press, Virginia, 1974, p. 601–642.

FOY, C. D.; CHANEY, R. L.; WHITE, M. C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 29, p. 511-566, 1978.

FRAME, J.; CHARLTON. J. F. L.; LAIDLAW, A. S. Lucerne (syn. Alfafa) In: FRAME, J.; CHARLTON, J. F. L.; LAIDLAW, A. S. (Ed.) **Temperate forage legumes**. New York: CAB International, 1998. p. 107-179.

FREIRE, J. R. J. Fixação do nitrogênio pela simbiose rizóbio/leguminosas. In: CARDOSO, E. J. N.; TSAI, S. N. M.; NEVES, M. C. **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 121-140.

FREITAS, A. R. et al. **Prioridades de pesquisa com a cultura da alfafa no Brasil**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2009.

FREITAS, F. A. et al. Absorção de P, Mg, Ca e K e tolerância de genótipos de arroz submetidos a estresse por alumínio em sistemas hidropônicos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 72-79, 2006.

FRY, W. E. **Principles of plant disease management**. New York: Academic Press, 1982. 377 p.

GASTAL F.; DURAND J. L. Effect of nitogen and water supply on N and C fluxes and partitioning in defoliated swards. In: LEMAIRE G. et al. **Grassland ecophysiology and grazing ecology** . Wallingford: CABI, 2000. 15-40 p.

GARDNER, W. K.; PARBERY, D. G.; BARBER, D. A. The acquisition of phosphorus by Lupinus albus L. I. Some characteristics of the soil/root interface. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 68, n. 1, p. 19-32, 1982.

GIAVENO, C. D. **Comparación de los ciclos de selección el desarrollo de poblaciones de alfalfa (*Medicago sativa* L.) con menor potencial empastador**. 1996, 69 f. Tese (Magister Scientiae) – EEA, INIA – U.N.R. – Pergmino – Argentina, 1996.

GOLPLEN, B. P. et al. **Growing and managing alfafa in Canada**. Ottawa, Canada: Agriculture CANADA, 1980. 50 p.

HAUG, A.; FOY, C. F. Molecular aspects of aluminum toxicity. **Critical Reviews in Plant Science**. Boca Raton, v. 1, n. 4, p. 345 – 373, 1984.

HEINRICHS, D. H. **Alfalfa in Canada**. Ottawa, Canada: Canada Department of Agriculture, 1968. 28 p. (Department of Agriculture. Publication, 1377).

HEINRICHS, D. H. The future of alfalfa for pastures in dry regions and research requirements. In: ALFALFA IMPROVEMENT CONFERENCE, 26., 1978, Brookings, SD. **Report…** St Paul: USDA-ARS, 1978. p.47-48.

HIJANO, E. H.; BASIGALUP, D. H. El cultivo de la alfalfa en la República Argentina. In: HIJANO, E. H.; NAVARRO, A. (Ed.). **La alfalfa en la Argentina**. Cuyo: INTA, 1995. p. 11-18.

HOEKENGA, O. A. et al. Identification and characterization of aluminum tolerance loci in Arabidopsis (Landsberg erecta x Columbia) by quantitative trait locus mapping. A physiologically simple but genetically complex trait. **Plant Physiology**, Rockville, v. 132, n. 2, p. 936-948, 2003.

HOVELAND, C. Grazing management for animal performance and plant persistence. In: NATIONAL ALFAFA GRAZING CONFERENCE, 1994. **Proceeding…** [S.I. : s.n], 1994. p. 17-23.

HOWELER, R. H. Identifying plants adaptable to low pH conditions. In:

WRIGHT, R. J.; BALIGAR, V. C.; MUMMANN, R. P. (Ed.). **Plant-soil interactions at low pH**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p. 885-904.

HOWELER, R. H.; CAVADID, L. F. Screening of rice cultivars for tolerance to Al-toxicity in nutrients solutions as compared with a field screening method. **Agronomy Journal**, Madison. 68: 551-555. 1976.

JACQUES, A. V. A. Manejo de espécies do gênero *Medicago*. In: SIMPÓSIO DE MANEJO DA PASTAGEM, 9., 1975, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, SP: Fealq, 1975.

JANKE, A. Seleção de populações de Lotus Corniculatus com maior tolerância ao alumínio em solução nutritiva**. Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 11, p. 2366-2370, 2010.

JO, J.; YOSHIDA, S. KAYAMA, R. Growth and nitrogen fixation of some leguminous forage grown under the acidic soil conditions. **Journal Japan Grassland Science**, Japan. v. 25, n. 4, p. 326-334, 1980.

JOHNSON, A. C.; WOOD, M. DNA, a possible site of action of aluminum in *Rhizobium spp*. **Applied and Environmental Microbiology**. Washington, v. 56, n. 12, p. 3629-3633, 1990.

JONES, D. L.; KOCHIAN, L. V. Aluminum inhibition of the inositol 1,4,5-triphosphate signal transduction pathway in wheat roots: a role of aluminum toxicity. **Plant Cell**, Rockville, v. 7, n. 11, p.1913-1922, 1995.

JONES, U. S. **Fertilizers & soil fertility**. Reston: Reston, 1979. 368 p.

KAEHNE, I. D. The performace under intensive continuous grazing of second generation bulk populations derived from crosses between wild and exotic Alfalfas and cultivated non-hardy varieties. In: ALFALFA IMPROVEMENT CONFERENCE, 26., 1978, Brookings. **Report…** St Paul: USDA-ARS, 1978. p. 26.

KALLENBACH, R. L.; NELSON, C. J.; COUTTS, J. H. Yield quality, and persistence of grazing-and had-type alfalfa under three harvest frequencies. **Agronomy Journal**, Madison. v. 94, p. 1094-1103, 2002.

KANG, D.; ISHII, R. Formation of acids organics in the root apices of rice plants grown in acid nutrient solution containing aluminum. **Plant Production Science**, Kyoto, v. 9, n. 3, 228-231, 2006.

KINRAIDE, T. B. Identity of rhizotoxic aluminum species. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 134, n. 1, p. 167-178, 1991.

KINRAIDE, T. B.; ARNOLD, R. C.; BALIGAR, V. C. A rapid assay for aluminum phytotoxicity at submicromolar concentrations. **Physiologia Plantarum**,

Copenhagen, v. 65, n. 3, 1985, p. 245–250..

KOCHIAN, L. V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 46, n. 1, p. 237-260, 1995.

KOCHIAN, L. V.; JONES, D. L. Aluminum toxicity and resistance in plants. In: YOKEL, R.; GOLUB, M. S. **Research issues in aluminum toxicity**. Bristol: Taylor and Francis Publishers, 1997. p. 69-90.

LÉDO, F. J. S. et al. Introdução e avaliação de germoplasma de alfafa no ecossistema de Mata Atlântica de Minas Gerais. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., Recife, 2002. **Anais...** Recife: SBZ, 2002. CD-ROOM.

LGE. **Genômica e expressão**. Disponível em: <http://www.lge.ibi.unicamp.br/lgeextensao2008/extsup/snps.pdf> . Acesso em: 19 out. 2010.

LOPES, A. S.; SILVA, M. C.; GUIMARÃES, G. L. R. **Correção da acidez do solo**. São Paulo: ANDA, 1991. 22 p. (Boletim Técnico ,1)

MA, J. F. et al. Internal detoxification mechanism of Al in hydrangea (Identification of Al form in the leaves). **Plant Physiology**, Rockville, v. 113, n. 4, p. 1033-1039, 1997.

MARQUEZ-ORTIZ, J. J. et al.Crown morphology relationships among alfalfa plant introductions and cultivars. **Crop Science**, Madison, v. 36, p. 766-767, 1996.

MARTINS, C. E. et al. Avaliação de genótipos de alfafa quanto à tolerância ao alumínio em solução. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 31., 2007, Gramado. **[Trabalhos...]**. Porto Alegre: SBCS, 2007.

MATSUMOTO, H. Cell biology of aluminum toxicity and tolerance in higher plants**. International Review Cytology**, San Diego, v. 200, p.1-46, 2000.

MATSUMOTO, H.; HIRASAWA, E.; MORIMURA, S.; TAKAHASHI, E. Localization of aluminum in tea leaves. **Plant Cell Physiology**, Kyoto, v. 17, n. 3, p. 627-631, 1976.

MELTON, W.; MOUTRAY, J. B.; BOUTON, J. H. Geographical adaptation and cultivar selection. In: HANSON, A. A.; BARNES, D. K.; HILL, R. R. **Alfalfa and alfalfa improvement**. Madison: American Society of Agronomy, 1988. p. 596-618.

MICHAUD, R.; LEHMAN, W. F.; RUMBAUCH, M.D. World distribution and historical development. In: HANSON, A. A.; BARNES, D.; HILL, R. R. (Ed.).

Alfalfa and alfalfa improvement. Madison: American Society of Agronomy, 1988. p. 25-92.

MITTELNANN, A.; LÉDO, F. J. S.; GOMES, J. F. **Tecnologias para a produção de alfafa no Rio Grande do Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado; Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2008. v. 1. 108 p.

MIYASAKA, S. C. et al. Mechanism of aluminum tolerance in Snapbeans (Root Exudation of citric acid). **Plant Physiology**, Rockville. v. 96, p. 737-743. 1991.

MOREIRA A. et al. **Fertilidade do solo e estado nutricional da alfafa cultivada nos trópicos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2007. 40 p. Disponível em: <http://www.cppse.embrapa.br/servicos/publicacaogratuita/documentos/Documentos67.pdf/view>. Acesso em: 24 nov. 2010.

MORIMURA, S.; TAKAHASHI, E.; MATSUMOTO, H. Association of aluminum with nuclei and inhibition of cell division in onion (*Allium cepa*) roots. **Crop Science**, Madison, v. 88, p. 395-401, 1978.

NEUERNBERG, N. J. Ténicas de Produção da Alfafa In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PASTAGENS, 1986, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1986. p. 145.

NOVAIS, R. F.; NEVES, J. C. L.; BARROS, N. F. Ensaio em ambiente controlado. In: OLIVEIRA, A. J. (Ed.) **Métodos de pesquisa em fertilidade de solo**. Brasília: Embrapa-SEA, 1991. p. 189-1987.

OFEI-MANU, P., et al. The plasma membrane strength of the root-tip cells and root phenolic compounds are correlated with Al tolerance in several common woody plants. **Soil Science Plant Nutrition**, Tokyo, v. 47, n. 2, p. 359-375, 2001.

OLIVEIRA W. S., et al. M. Alfalfa yield and quality as function of nitrogen fertilization and symbiosis with Sinorhizobium meliloti. **Scientia Agrícola.** Piracicaba. v. 71, n. 4, p. 443-438, 2004.

OLIVEIRA, I. P.; COSTA, K. A. P. **Formação da acidez dos solos**. 2009. Disponível em: <www.fmb.edu.br/ler_artigo.php?artigo>. Acesso em: 28 nov. 2010.

OLIVEIRA, I. P. et al. Considerações Sobre a Acidez dos Solos de Cerrado. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, São Luís de Montes Belos, v. 1, n. 1, p. 1-12, ago. 2005.

OLIVEIRA, P. R. D. Pragas e doenças da alfafa. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 8., 1986, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, 1986.

OUELLETTE, G. J.; DESSUREAUX, L. Chemical composition of alfalfa as

related to degree of tolerance to manganese and aluminum. **Journal of Plant Science**, Canadian, v. 38, p. 206-214, 1958.

PAIM, P. Melhoramento genético de leguminosas forrageiras. In: PEIXOTO, A. M.; MOURA, J. C.; FARIA, V. P. **Pastagens fundamentos da exploração racional**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1994. 908 p.

PASSOS, L. D. Indicadores Fisiológicos para Cultura da Alfafa nos trópicos. In: WORKSHOP SOBRE O POTENCIAL FORRAGEIRO DA ALFAFA (*Medicago sativa l.*) NOS TRÓPICOS, 1994, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa-CNPGL, 1994. p. 149-158.

PEIXOTO, P. H. P.; PIMENTA, D. S.; CAMBRAIA, J. Alterações morfológicas e acúmulo de compostos fenólicos em plantas de sorgo sob estresse de alumínio. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 1, p. 17-25, 2007.

PEREIRA, A. V. **Cultivo e utilização da alfafa nos trópicos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2008. 469 p.

PEREIRA, A. V. et al. Melhoramento de forrageiras tropicais In: RECURSOS genéticos e melhoramento de plantas. Rondonópolis, MT: Fundação Mato Grosso, 2001. p. 550-601.

PEREZ, N. B. **Melhoramento genético de leguminosas de clima temperado – alfafa (*Medicago sativa* L.) e cornichão (*Lotus corniculatus* L.) para aptidão ao pastejo**. 2003. 175 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia - Plantas Forrageiras, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

PEREZ, N. B.; DALL'AGNOL, M. Características morfológicas de plantas de alfafa relacionadas à aptidão ao pastejo. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 3, p. 414-421, 2009.

PEZZINI, D.; SCHEFFER-BASSO, S. M. Caracterização de plantas juvenis de alfafa selecionadas em estágio de plântula. In: REUNIÓN DEL GRUPO TECNICO DE FORRAJERAS DEL CONO SUR - GRUPO CAMPOS, 32., 2008, Minas, Uruguay, **Memorias…** Montevideo, 2008. p. 159

PIANO, E. et al. Evolution of a Lucerne germplasm collection in relation to traits conferring grazing tolerance. **Euphytica**, Wageningen. v. 89, n.2, p. 279-288, 1996.

QUEIROZ, C. F.; BAUCHAN, G. R. The genus *Medicago* and the origin of the *Medicago sativa* complex. In: HANSON, A. A.; BERNES, D. K.; HILL, R. R. (Ed.). **Alfalfa and alfalfa improvement**. Madison: American Society of Agronomy, 1988, p. 25-92.

RASSINI, J. B. et al. Manejo da adubação potássica para a cultura da alfafa. In:

REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jabuticabal. **Anais**... Jabuticabal: SBZ, UNESP, 2007.

ROCHA, W. S. D. et al. Tolerância de genótipos de alfafa ao alumínio em solução. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 31., 2007, Gramado. **[Trabalhos...]**. Porto Alegre: SBCS, 2007.

RODRIGUES, N. E.; EROLES, S. F. **Cultivo e utilização da afafa nos trópicos.** São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2008a. Cap. 6: p. 171-204.

RODRIGUES, N. E.; EROLES, S. F. **Cultivo e utilização da alfafa nos trópicos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2008b. Cap. 1: p. 16-36.

ROMERO, N. A.; COMERÓN, E. A.; USTARROZ, E. Crescimento y utilización de la alfafa. In: LA ALFAFA. Cuyo: INTA- C. R. Cuyo, 1995. p. 151-170.

RUGGIERI, A., et al. Avaliação de quatro cultivares de alfafa (Medicago sativa L.) sob pastejo em Sertãozinho, SP. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia, GI. **Anais...** Viçosa: SBZ, 2005. 4 p. 1 CD-ROM.

RUMBAUGH, M. D.; CADDEL, J. L.; ROWE, D. E. Breeding and quantitative genetics. In: HANSON, A.A. (Coord). **Alfalfa and alfalfa improvement**, Madison: ASA, 1988. p. 777-808.

RYAN, P. R.; DELHAIZE, E; JONES, D. L. Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. **Plant Physiology**. Rockville, v. 52, p. 527-560, 2001.

RYAN, P. R.; DITOMASO, J. M.; KOCHIAN, L. V. Aluminum toxicity in roots – An investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 44, n. 2, p. 437-446, 1993.

SAIBRO, J. C.; MARASCHIN, G. E.; BARRETO, I. L. **Avaliações preliminares de cultivares de alfafa (*Medicago sativa* L.) no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1972. p. 57-60. (Relatório de Pesquisa, 1965-1972).

SAIBRO, J. C. Produção de alfafa no Rio Grande do Sul. In: SIMPÓSIO SOBRE O MANEJO DE PASTAGENS, 7., 1985, Piracicaba. **Anais...**. Piracicaba: FEALQ, 1985. p. 61-106.

SAMAC, D. A.; TESFAYE, M. Plant improvement for tolerance to aluminum in acid soils: a review. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Netherlands, v. 75, p. 189-207, 2003.

SANTOS, A. M. **Melhoramento Genético de Lotus Corniculatus visando tolerância à toxidez por o alumínio**. 2009. 179 f. Tese (Doutorado) Programa

de Pós-Graduação em Zootecnia – Plantas Forrageiras, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

SANTOS, A. M. et al. Aumento da exudação radicular de ácido oxálico em Lotus corniculatus em resposta a presença de alumínio em solução nutritiva. In: REUNIÓN DEL GRUPO TECNICO DE FORRAJERAS DEL CONO SUR, 22., 2008, Minas, Uruguai. **Memorias...** Montevideo: Tradinco, [2008]. (CD-ROM).

SCHEFFER-BASSO, S. M., et al. Crescimento de plântulas de *Adesmia spp*. submetidas a doses de alumínio em solução nutritiva. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 217-222, 2000

SECCO, D. **Caracterização morfológica de plântulas de alfafa. Uma ferramenta na seleção de alfafa tipo-pastejo**. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo. Programa de Bolsas de iniciação Científica. Instituto de Ciências Biológicas, 2006.

SHELTOM, H. M.; FRANZEL, S.; PETERS, M. Adoption of tropic legume technology around the world: analysis of success. In: McGILLOWAY, D. A. (Ed.) **Grassland**: a global resource. Wageningen: Wageningen Academic Publishers, 2005. p. 149-166.

SILVA, J. B. C.; NOVAIS, R. F.; SEDIYAMA, C. S. Comportamento de genótipos de soja em solo com alta saturação de alumínio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 3, p. 287-298, 1984.

SMITH Jr., S. R.; BOUTON, J. H.; HOVELAND, C. S. Alfalfa Persistence and Regrowth Potential under Continuous Grazing. **Agronomy Journal**, Madison v. 81, p. 960-965, 1989.

SMITH Jr., S. R.; BOUTON, J. H. Selection within Alfalfa Cultivars for Persistence under Continuous Stocking. **Crop Science**, Madison, v. 33, p. 1321-1328, 1993.

SPEHAR, C. R.; MAKITA, M. Tolerância ao alumínio em plântulas de soja e sua utilização. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 12, p. 1927-1932, dez. 1994.

SPOSITO, G. **The chemistry of soils**. New York: Oxford University, 1989.

SUMNER, M.E.; SHAHANDEH. H.; BOUTON, J.H. et al. Amelioration of an acid soil profile through deep liming and surface application of gypsum. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 50, n. 1254 – 1258, 1986.

TAYLOR, G. J. Current views of the aluminum stress response: the physiological basis of tolerance. In: RANDALL, D. D.; BLEVINS, D. G.; MILES, C. D. (eds.). **Current Topics in Plant Biochemistry Physiology**, Columbia, v. 10, p. 57-93, 1991.

TEUBER, L. R.; BRICK, M. A. Morphology and anatomy In: HANSON, A. A.; BERNES, D. K.; HILL, R. R. (Ed.). **Alfalfa and alfalfa improvement**. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, 1998. p. 125-158

VIANDS D. R.; SUN, P.; BARNES, D. K. Pollination control: mechanical and sterility. In: HANSON, A. A.; BERNES, D. K.; HILL, R. R. (Ed.). **Alfalfa and alfalfa improvement**. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, 1988. p. 931-960.

VILELA, D. Potencial do pasto de alfafa (Medicago sativa L.) para a produção de leite. In: WORKSHOP SOBRE O POTENCIAL FORRAGEIRO DA ALFAFA NOS TRÓPICOS, 1994, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: EMBRAPA–CNPGL, 1994. p. 205-207

VILLAGARCIA, M. R. et al. Genotypic rankings for aluminum tolerance of soybean roots grown in hydroponics and sand culture. **Crop Science**. Madison, v. 41, p. 1499–1507, 2001.

VON UEXKÜLL, H. R.; MUTERT, E. Global extent, development and economic impact of acid soils. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 171, p.1-15, 1995.

WENZL P, et al. Simulating interfile acid soils with nutrient solution: The effects on *Brachiaria* Species. **Soil Science Society America Journal**. Madison, v. 67, p. 1457-1469, 2003.

WENZL, P. et al. Aluminum stress stimulates the accumulation of organic acids in root apices of Brachiaria species. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 165, n. 5, p. 582-588, 2002.

WENZL, P. et al. The high level of aluminum resistance in signalgrass is not associated with known mechanisms of external aluminum detoxification in root apices. **Plant Physiology**, Rockville, v. 125, n. 3, p.1473-1484, 2001.

ZIMMER, A. G.; JACQUES, A. V. A.; MARKUS, R. Consorciações de gramíneas forrageiras de estação quente com alfafa cv. Crioula, submetidas a duas alturas de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, p. 1349-1359, 1982.

7. APÊNDICES

Apêndice 1. Análise de variância referente ao comprimento radicular das populações de alfafa submetidas a diferentes concentrações de Al.

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Gen_tipo	8	CRIOULA ECF1 ERECHIM ESTRELA POA SJI SOLO SOLUÇÃO
Tratamento	6	0 3 6 12 24 48
Repeti__o	8	1 2 3 4 5 6 7 8

Number of observations 384

NOTE: Due to missing values, only 364 observations can be used in this analysis.
21:57 Sunday, February 28, 2011 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR7 CR7

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	87	662.9074313	7.6196256	23.23	<.0001
Error	276	90.5166071	0.3279587		
Corrected Total	363	753.4240385			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR7 Mean
0.879860	16.07080	0.572677	3.563462

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Repeti__o(Tratament)	42	17.5558929	0.4179974	1.27	0.1310
Gen_tipo	7	245.9965024	35.1423575	107.15	<.0001
Tratamento	5	331.6973173	66.3394635	202.28	<.0001
Gen_tipo*Tratamento	33	62.4383527	1.8920713	5.77	<.0001

The SAS System

---------- Tratamento=0 ----------

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Genotipo	8	CRIOULA ECF ERECHIM ESTRELA POA SJI SOLO SOLUCAO
Repeticao	8	1 2 3 4 5 6 7 8

Number of observations 64

The SAS System

---------- Tratamento=0 ----------

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR7

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	14	59.43875000	4.24562500	9.18	<.0001
Error	49	22.65062500	0.46225765		
Corrected Total	63	82.08937500			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR7 Mean
0.724074	14.55294	0.679895	4.671875

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Genotipo	7	57.13187500	8.16169643	17.66	<.0001
Repeticao	7	2.30687500	0.32955357	0.71	0.6613

The SAS System

---------- Tratamento=0 ----------

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CR7

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	49
Error Mean Square	0.462258
Critical Value of Studentized Range	4.47659
Minimum Significant Difference	1.0761

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Genotipo
A	5.7625	8	SOLO
A			
B A	5.6625	8	ECF
B A			
B A	5.6125	8	SJI
B A			
B A C	4.6875	8	POA
B C			
B C	4.6500	8	SOLUCAO
C			
C	4.4125	8	CRIOULA
C			

```
                                D    C        3.6250      8    ESTRELA
                                D
                                D            2.9625      8    ERECHIM


                                        The SAS System
------------------------------------------ Tratamento=3 ------------------------------

                                       The GLM Procedure
                                   Class Level Information
                                Class          Levels    Values

             Genotipo           8    CRIOULA ECF ERECHIM ESTRELA POA SJI SOLO SOLUCAO
             Repeticao          8    1 2 3 4 5 6 7 8

                                   Number of observations    63


                                        The SAS System
------------------------------------------ Tratamento=3 ------------------------------

                                       The GLM Procedure

Dependent Variable: CR7

                                              Sum of
    Source                      DF          Squares     Mean Square    F Value    Pr < F
    Model                       14      56.87110311      4.06222165      12.55    <.0001
    Error                       47      15.20776786      0.32356953
    Corrected Total             61      72.07887097


                          R-Square     Coeff Var      Root MSE      CR7 Mean

                          0.789012      12.82923      0.568832      4.433871


    Source                      DF     Type III SS     Mean Square    F Value    Pr < F
   Genotipo                     7      53.44133929      7.63447704      23.59    <.0001
   Repeticao                    7       3.46098214      0.49442602       1.53    0.1812

                                        The SAS System
------------------------------------------ Tratamento=3 ------------------------------

                                       The GLM Procedure

                           Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CR7

                                     error rate than REGWQ.


                           Alpha                                    0.05
                           Error Degrees of Freedom                   47
                           Error Mean Square                     0.32357
                           Critical Value of Studentized Range   4.48487
                           Minimum Significant Difference         0.9206
                           Harmonic Mean of Cell Sizes              7.68
```

NOTE: Cell sizes are not equal.

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Genotipo
A	5.8000	8	SJI
A			
B A	5.0375	8	ECF
B			
B	4.7875	8	CRIOULA
B			
B	4.7250	8	SOLO
B			
B	4.5875	8	SOLUCAO
B			
B	4.3375	8	POA
C	3.1375	8	ERECHIM
C			
C	2.6000	6	ESTRELA

The SAS System

---------- Tratamento=6 ----------

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Genotipo	8	CRIOULA ECF ERECHIM ESTRELA POA SJI SOLO SOLUCAO
Repeticao	8	1 2 3 4 5 6 7 8
Number of observations	63	

The SAS System

---------- Tratamento=6 ----------

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR7

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	14	56.39177419	4.02798387	13.39	<.0001
Error	47	14.14000000	0.30085106		
Corrected Total	61	70.53177419			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR7 Mean
0.799523	13.81834	0.548499	3.969355

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Genotipo	7	52.40607143	7.48658163	24.88	<.0001
Repeticao	7	5.86250000	0.83750000	2.78	0.0166

The SAS System

---------- Tratamento=6 ----------

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CR7

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	47
Error Mean Square	0.300851
Critical Value of Studentized Range	4.48487
Minimum Significant Difference	0.8877
Harmonic Mean of Cell Sizes	7.68

NOTE: Cell sizes are not equal.

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping			Mean	N	Genotipo
	A		5.6375	8	SJI
	A				
B	A		5.0250	8	ECF
B					
B	C		4.1750	8	SOLUCAO
	C				
D	C		3.7000	8	POA
D	C				
D	C	E	3.5375	8	SOLO
D	C	E			
D	C	E	3.5000	8	CRIOULA
D		E			
D		E	3.2000	8	ERECHIM
		E			
		E	2.6500	6	ESTRELA

The SAS System

---------- Tratamento=12 ----------

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Genotipo	8	CRIOULA ECF ERECHIM ESTRELA POA SJI SOLO SOLUCAO
Repeticao	8	1 2 3 4 5 6 7 8

Number of observations 60

The SAS System

---------- Tratamento=12 ----------

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR7

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	13	72.27767857	5.55982143	17.23	<.0001
Error	42	13.55071429	0.32263605		
Corrected Total	55	85.82839286			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR7 Mean
0.842119	15.80159	0.568011	3.594643

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Genotipo	6	70.09214286	11.68202381	36.21	<.0001
Repeticao	7	2.18553571	0.31221939	0.97	0.4670

The SAS System

---------- Tratamento=12 ----------

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CR7

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	42
Error Mean Square	0.322636
Critical Value of Studentized Range	4.37777
Minimum Significant Difference	0.8792

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Genotipo
A	5.6250	8	SJI
A			
A	5.0500	8	ECF
B	3.1000	8	CRIOULA
B			
B	3.0125	8	SOLUCAO
B			
B	2.8375	8	ERECHIM
B			
B	2.7750	8	POA
B			
B	2.7625	8	SOLO

The SAS System

---------- Tratamento=24 ----------

The GLM Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
Genotipo	8	CRIOULA ECF ERECHIM ESTRELA POA SJI SOLO SOLUCAO
Repeticao	8	1 2 3 4 5 6 7 8

Number of observations 60

The SAS System
---------- Tratamento=24 ----------

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR7

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	13	45.70000000	3.51538462	13.08	<.0001
Error	42	11.28500000	0.26869048		
Corrected Total	55	56.98500000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR7 Mean
0.801965	19.37771	0.518354	2.675000

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Genotipo	6	43.73500000	7.28916667	27.13	<.0001
Repeticao	7	1.96500000	0.28071429	1.04	0.4154

The SAS System
---------- Tratamento=24 ----------

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CR7

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	42
Error Mean Square	0.26869
Critical Value of Studentized Range	4.37777
Minimum Significant Difference	0.8023

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Genotipo
A	4.0375	8	ECF
A			
A	3.9625	8	SJI

```
                B        2.5625      8    POA
                B
           C    B        2.3375      8    SOLUCAO
           C    B
           C    B        2.2500      8    CRIOULA
           C    B
           C    B        1.9750      8    ESTRELA
           C
           C             1.6000      8    ERECHIM
```

The SAS System

-- Tratamento=48 ------------------------------

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Genotipo	8	CRIOULA ECF ERECHIM ESTRELA POA SJI SOLO SOLUCAO
Repeticao	8	1 2 3 4 5 6 7 8

Number of observations 64

The SAS System

-- Tratamento=48 ------------------------------

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR7

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	14	29.39500000	2.09964286	7.52	<.0001
Error	49	13.68250000	0.27923469		
Corrected Total	63	43.07750000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR7 Mean
0.682375	26.84072	0.528427	1.968750

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Genotipo	7	27.62000000	3.94571429	14.13	<.0001
Repeticao	7	1.77500000	0.25357143	0.91	0.5081

The SAS System

-- Tratamento=48 ------------------------------

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CR7

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	49

Error Mean Square 0.279235
Critical Value of Studentized Range 4.47659
Minimum Significant Difference 0.8363

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Genotipo
A	3.6250	8	SJI
B	2.0500	8	SOLUCAO
B			
B	1.9250	8	ECF
B			
B	1.9000	8	POA
B			
B	1.6750	8	SOLO
B			
B	1.6375	8	CRIOULA
B			
B	1.4750	8	ERECHIM
B			
B	1.4625	8	ESTRELA

The SAS System
---------- Genotipo=CRIOULA ----------

The GLM Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
Tratamento	6	0 3 6 12 24 48
Repeticao	8	1 2 3 4 5 6 7 8

Number of observations 48

The SAS System
---------- Genotipo=CRIOULA ----------

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR7

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	12	60.41833333	5.03486111	15.02	<.0001
Error	35	11.73479167	0.33527976		
Corrected Total	47	72.15312500			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR7 Mean
0.837363	17.64673	0.579033	3.281250

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F

Tratamento	5	59.15687500	11.83137500	35.29	<.0001
Repeticao	7	1.26145833	0.18020833	0.54	0.8001

The SAS System

---------- Genotipo=CRIOULA ----------

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CR7

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	35
Error Mean Square	0.33528
Critical Value of Studentized Range	4.26141
Minimum Significant Difference	0.8724

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Tratamento
A	4.7875	8	3
A			
A	4.4125	8	0
B	3.5000	8	6
B			
C B	3.1000	8	12
C			
C D	2.2500	8	24
D			
D	1.6375	8	48

The SAS System

---------- Genotipo=ECF ----------

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Tratamento	6	0 3 6 12 24 48
Repeticao	8	1 2 3 4 5 6 7 8

Number of observations 48

The SAS System

---------- Genotipo=ECF ----------

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR7

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	12	74.07833333	6.17319444	19.71	<.0001
Error	35	10.95979167	0.31313690		
Corrected Total	47	85.03812500			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR7 Mean
0.871119	12.55734	0.559586	4.456250

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Tratamento	5	72.41187500	14.48237500	46.25	<.0001
Repeticao	7	1.66645833	0.23806548	0.76	0.6238

The SAS System

---------- Genotipo=ECF ----------

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CR7

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	35
Error Mean Square	0.313137
Critical Value of Studentized Range	4.26141
Minimum Significant Difference	0.8431

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Tratamento
A	5.6625	8	0
A			
A	5.0500	8	12
A			
A	5.0375	8	3
A			
A	5.0250	8	6
B	4.0375	8	24
C	1.9250	8	48

The SAS System

---------- Genotipo=ERECHIM ----------

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values

Tratamento	6	0 3 6 12 24 48
Repeticao	8	1 2 3 4 5 6 7 8

Number of observations 48

The SAS System
---------- Genotipo=ERECHIM ----------

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR7

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	12	25.34333333	2.11194444	10.17	<.0001
Error	35	7.26645833	0.20761310		
Corrected Total	47	32.60979167			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR7 Mean
0.777169	17.97124	0.455646	2.535417

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Tratamento	5	24.61854167	4.92370833	23.72	<.0001
Repeticao	7	0.72479167	0.10354167	0.50	0.8290

The SAS System
---------- Genotipo=ERECHIM ----------

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CR7

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	35
Error Mean Square	0.207613
Critical Value of Studentized Range	4.26141
Minimum Significant Difference	0.6865

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Tratamento

```
                    A        3.2000      8    6
                    A
                    A        3.1375      8    3
                    A
                    A        2.9625      8    0
                    A
                    A        2.8375      8    12

                    B        1.6000      8    24
                    B
                    B        1.4750      8    48

                                The SAS System
---------------------------------------- Genotipo=ESTRELA ----------------------------

                                The GLM Procedure
                           Class Level Information
                     Class           Levels    Values

                  Tratamento           6    0 3 6 12 24 48
                  Repeticao            8    1 2 3 4 5 6 7 8

                       Number of observations    42

                                The SAS System
---------------------------------------- Genotipo=ESTRELA ----------------------------

                                The GLM Procedure

Dependent Variable: CR7

                                          Sum of
     Source                     DF         Squares     Mean Square    F Value    Pr < F
     Model                      11     25.45394444      2.31399495       7.14    <.0001
     Error                      24      7.77494444      0.32395602
     Corrected Total            35     33.22888889


                        R-Square     Coeff Var      Root MSE      CR7 Mean

                        0.766019      23.28428      0.569171      2.444444



     Source                     DF     Type III SS     Mean Square    F Value    Pr < F
     Tratamento                  4     21.33438889      5.33359722      16.46    <.0001
     Repeticao                   7      4.42880556      0.63268651       1.95    0.1048


                                The SAS System
---------------------------------------- Genotipo=ESTRELA ----------------------------

                                The GLM Procedure

                    Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CR7
```

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	24
Error Mean Square	0.323956
Critical Value of Studentized Range	4.16632
Minimum Significant Difference	0.8925
Harmonic Mean of Cell Sizes	7.058824

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Tratamento
A	3.6250	8	0
B	2.6500	6	6
B			
B	2.6000	6	3
B			
C B	1.9750	8	24
C			
C	1.4625	8	48

The SAS System

---------- Genotipo=POA ----------

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Tratamento	6	0 3 6 12 24 48
Repeticao	8	1 2 3 4 5 6 7 8

Number of observations 48

The SAS System

---------- Genotipo=POA ----------

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR7

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	12	48.91000000	4.07583333	8.16	<.0001
Error	35	17.48479167	0.49956548		
Corrected Total	47	66.39479167			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR7 Mean
0.736654	21.24382	0.706799	3.327083

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Tratamento	5	47.49354167	9.49870833	19.01	<.0001
Repeticao	7	1.41645833	0.20235119	0.41	0.8927

The SAS System

---------- Genotipo=POA ----------

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CR7

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	35
Error Mean Square	0.499565
Critical Value of Studentized Range	4.26141
Minimum Significant Difference	1.0649

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Tratamento
A	4.6875	8	0
A			
A	4.3375	8	3
A			
B A	3.7000	8	6
B			
B C	2.7750	8	12
C			
C	2.5625	8	24
C			
C	1.9000	8	48

The SAS System

---------- Genotipo=SJI ----------

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Tratamento	6	0 3 6 12 24 48
Repeticao	8	1 2 3 4 5 6 7
Number of observations	48	

The SAS System

---------- Genotipo=SJI ----------

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR7

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	12	41.06500000	3.42208333	6.06	<.0001
Error	35	19.77312500	0.56494643		
Corrected Total	47	60.83812500			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR7 Mean
0.674988	14.90219	0.751629	5.043750

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Tratamento	5	38.14187500	7.62837500	13.50	<.0001
Repeticao	7	2.92312500	0.41758929	0.74	0.6405

The SAS System

---------- Genotipo=SJI ----------

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CR7

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	35
Error Mean Square	0.564946
Critical Value of Studentized Range	4.26141
Minimum Significant Difference	1.1324

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Tratamento
A	5.8000	8	3
A			
A	5.6375	8	6
A			
A	5.6250	8	12
A			
A	5.6125	8	0
B	3.9625	8	24
B			
B	3.6250	8	48

The SAS System

---------- Genotipo=SOLO ----------

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values

Tratamento	6	0 3 6 12 24 48
Repeticao	8	1 2 3 4 5 6 7 8

Number of observations 44

The SAS System

---------- Genotipo=SOLO ----------

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR7

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	11	84.34125000	7.66738636	31.08	<.0001
Error	28	6.90650000	0.24666071		
Corrected Total	39	91.24775000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR7 Mean
0.924310	13.45022	0.496649	3.692500

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Tratamento	4	82.48150000	20.62037500	83.60	<.0001
Repeticao	7	1.85975000	0.26567857	1.08	0.4037

The SAS System

---------- Genotipo=SOLO ----------

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CR7

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	28
Error Mean Square	0.246661
Critical Value of Studentized Range	4.12030
Minimum Significant Difference	0.7235

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Tratamento
A	5.7625	8	0
B	4.7250	8	3
C	3.5375	8	6
D	2.7625	8	12
E	1.6750	8	48

The SAS System
---------- Genotipo=SOLUCAO ----------

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Tratamento	6	0 3 6 12 24 48
Repeticao	8	1 2 3 4 5 6 7 8

Number of observations 48

The SAS System
---------- Genotipo=SOLUCAO ----------

The GLM Procedure

Dependent Variable: CR7

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	12	56.11333333	4.67611111	18.29	<.0001
Error	35	8.94979167	0.25570833		
Corrected Total	47	65.06312500			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR7 Mean
0.862444	14.57805	0.505676	3.468750

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Tratamento	5	53.17187500	10.63437500	41.59	<.0001
Repeticao	7	2.94145833	0.42020833	1.64	0.1558

The SAS System
---------- Genotipo=SOLUCAO ----------

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CR7

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	35
Error Mean Square	0.255708
Critical Value of Studentized Range	4.26141
Minimum Significant Difference	0.7619

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Tratamento
A	4.6500	8	0
A			
A	4.5875	8	3
A			
A	4.1750	8	6
B	3.0125	8	12
B			
C B	2.3375	8	24
C			
C	2.0500	8	48

Apêndice 2. Análise estatística referente ao comprimento radicular dos progenitores e das progênie de três populações de alfafa submetidas a uma concentração de 8µMol/L de Al.

The SAS System
The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Genotipo	6	MaePOA MaeSJI MaeSOLUC ProgPOA ProgSJI ProgSOLU
Repeticao	120	

Number of observations 707

The SAS System
The GLM Procedure

Dependent Variable: CR

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	124	348.2666299	2.8086019	2.89	<.0001
Error	581	564.8649140	0.9722288		
Corrected Total	705	913.1315439			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CR Mean
0.381398	23.29901	0.986017	4.232011

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Genotipo	5	223.2234513	44.6446903	45.92	<.0001
Repeticao	119	125.0431786	1.0507830	1.08	0.2805

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Genotipo	5	222.9775860	44.5955172	45.87	<.0001
Repeticao	119	125.0431786	1.0507830	1.08	0.2805

The SAS System
The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CR

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	581
Error Mean Square	0.972229
Critical Value of Studentized Range	4.04361
Minimum Significant Difference	0.3679
Harmonic Mean of Cell Sizes	117.4571

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Genotipo
A	4.9783	120	ProgSJI
B	4.5558	120	ProgPOA
B			
B	4.4869	107	ProgSOLU
B			
B	4.4025	119	MaeSJI
C	3.6333	120	MaeSOLUC
C			
C	3.3642	120	MaePOA

Apêndice 3. Análise estatística referente ao comprimento do 1º entrenó de nove populações de alfafa testadas para tolerância ao pastejo.

The SAS System
The GLM Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
Genotipo	9	ABT E2C2 E2C3 ERECHIM Estrela E1C2 E1C3 POA SJI
Rep	320	

Number of observations 2546

The SAS System
The GLM Procedure

Dependent Variable: 1º entrenó

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	327	50.7870195	0.1553120	5.42	<.0001
Error	2218	63.5803686	0.0286656		
Corrected Total	2545	114.3673881			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PriEntNo Mean
0.444069	40.01313	0.169309	0.423134

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr < F

Genotipo	8	41.40212388	5.17526549	180.54	<.0001
Rep	319	9.38489559	0.02941974	1.03	0.3712

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Genotipo	8	41.75809173	5.21976147	182.09	<.0001
Rep	319	9.38489559	0.02941974	1.03	0.3712

The SAS System
The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for 1ºEntrenó

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	2218
Error Mean Square	0.028666
Critical Value of Studentized Range	4.39088
Minimum Significant Difference	0.0449
Harmonic Mean of Cell Sizes	273.8102

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Genotipo
A	0.60625	320	Estrela
A			
B A	0.56498	317	POA
B			
B	0.53910	312	ERECHIM
C	0.47413	286	EC2C3
D	0.35020	249	EC2C2
D			
E D	0.33068	176	EC1C2
E D			
E D	0.31099	273	EC1C3
E			
E F	0.28970	301	ABT
F			
F	0.26571	312	SJI

Apêndice 4. Análise estatística referente ao comprimento do 2º entrenó de nove populações de alfafa testadas para tolerância ao pastejo.

The SAS System
The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Genotipo	9	ABT E2C2 E2C3 ERECHIM ESTRELA E1C2 E1C3 POA SJI
Rep	320	

Number of observations 2546

The SAS
The GLM Procedure

Dependent Variable: 2ºEntrenó

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	327	364.9095871	1.1159315	10.59	<.0001
Error	2297	242.1518376	0.1054209		
Corrected Total	2624	607.0614248			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	2º entrenó Mean
0.601108	25.06692	0.324686	1.295276

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Genotipo	8	319.8148792	39.9768599	379.21	<.0001
Rep	319	45.0947079	0.1413627	1.34	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Genotipo	8	318.4390830	39.8048854	377.58	<.0001
Rep	319	45.0947079	0.1413627	1.34	0.0001

The SAS
The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for 2º Entrenó

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	2297
Error Mean Square	0.105421
Critical Value of Studentized Range	4.39073
Minimum Significant Difference	0.0845
Harmonic Mean of Cell Sizes	284.4281

Tukey Grouping		Mean	N	Genotipo
	A	1.79375	320	ESTRELA
	A			
B	A	1.74686	318	POA
B				
B		1.69236	314	ERECHIM
	C	1.17989	189	ECd
	C			
	C	1.16000	320	SJI
	D	1.07000	310	ABT
	D			
E	D	1.00727	289	ECt
E				
E	F	0.93723	274	NCt
	F			
	F	0.91203	291	NCd

Apêndice 5. Análise estatística referente ao comprimento médio do 1º entrenó e 2º entrenó das 25 plântulas selecionadas de cada uma das nove populações de alfafa testadas para tolerância ao pastejo.

The SAS System
The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Genotipo	9	ABT E2C2 E2C3 Erechim Estrela E1C2 E1C3 Poa SJI
Rep	25	

Number of observations 225

The SAS
The GLM Procedure

Dependent Variable: 1ºEntrenó

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	32	4.89386667	0.15293333	97.85	<.0001
Error	192	0.30008889	0.00156296		
Corrected Total	224	5.19395556			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	1ºEntrenó Mean
0.942223	18.96636	0.039534	0.208444

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Genotipo	8	4.62435556	0.57804444	369.84	<.0001
Rep	24	0.26951111	0.01122963	7.18	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Genotipo	8	4.62435556	0.57804444	369.84	<.0001
Rep	24	0.26951111	0.01122963	7.18	<.0001

The SAS System
The GLM Procedure

Dependent Variable: 2ºEntrenó

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr < F
Model	32	15.14666667	0.47333333	58.71	<.0001
Error	192	1.54782222	0.0080615		
Corrected Total	224	16.69448889			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	2ºEntrenó Mean
0.907285	11.02724	0.089786	0.814222

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Genotipo	8	13.86328889	1.73291111	214.96	<.0001
Rep	24	1.28337778	0.05347407	6.63	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr < F
Genotipo	8	13.86328889	1.73291111	214.96	<.0001
Rep	24	1.28337778	0.05347407	6.63	<.0001

The SAS System
The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for 1ºEntrenó

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	192
Error Mean Square	0.001563
Critical Value of Studentized Range	4.43714
Minimum Significant Difference	0.0351

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Genotipo
A	0.43600	25	Estrela
B	0.40000	25	Erechim
B			
B	0.38400	25	Poa
C	0.16400	25	E2C3
D	0.12800	25	E2C2
D			
D	0.10800	25	E1C3
D			
D	0.10400	25	ABT
D			
D	0.10000	25	SJI
E	0.05200	25	E1C2

The SAS
The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for 2ºEntrenó

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	192
Error Mean Square	0.008062
Critical Value of Studentized Range	4.43714
Minimum Significant Difference	0.0797

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	Genotipo
A	1.20000	25	Poa

	A			
B	A	1.17600	25	Estrela
B				
B		1.10000	25	Erechim
	C	0.72400	25	E2C2
	C			
	C	0.70000	25	SJI
	D	0.61600	25	E2C3
	D			
	D	0.61200	25	ABT
	D			
	D	0.60000	25	E1C3
	D			
	D	0.60000	25	E1C2

Apêndice 5. Análise de correlação entre os caracteres comprimento do 1º e do 2º entrenó

Programa GENES Coeficientes de Correlação de Pearson
Arquivo de dados : C:\Analises\corr_no_karla.dat
Número de variáveis : 2
Valor perdido : 0

Variáveis	Var(X)	Var(Y)	Cov(X,Y)	N.dados	Correlação	Alfa (%)
x 1 x x 2	0,044	0,2313	0,0383	2495	0,3799	** ,001

**,* : Significativo a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste t.

8. VITA

Karla Médici Saraiva filha de José Ricardo Pereira saraiva e Kátia Médici Saraiva, nasceu em 28 de setembro de 1985 no município de Bagé – RS. Concluiu o ensino fundamental e ensino médio no Colégio Nossa Senhora Auxiliadora.

Ingressou na Universidade da Região da Campanha, no curso de Agronomia, em 2004, graduando-se em 2009.

Durante a graduação atuou como bolsista de iniciação científica nas áreas de forragicultura, bromatologia, solos e tecnologia de alimentos. No período de junho de 2007 a fevereiro de 2009 atuou também como bolsista na Embrapa Pecuária Sul, nos setores de plantas forrageiras.

Em março de 2009, iniciou o Mestrado em Zootecnia, Área de concentração Plantas Forrageiras, no Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.