

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

**ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA E AVALIAÇÃO DE  
CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS ASSOCIADAS À  
TOLERÂNCIA À SECA EM DIFERENTES GENÓTIPOS DE  
TREVO BRANCO (*Trifolium repens* L.)**

**Tese de Doutorado**

**Fernanda Bortolini**

**Porto Alegre, 2008**

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

**ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA E AVALIAÇÃO DE  
CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS ASSOCIADAS À  
TOLERÂNCIA À SECA EM DIFERENTES GENÓTIPOS DE  
TREVO BRANCO (*Trifolium repens* L.)**

**FERNANDA BORTOLINI  
Bióloga/UPF  
Mestre em Zootecnia/UFRGS**

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

Porto Alegre (RS), Brasil  
Junho - 2008

## **Agradecimentos**

Ao CNPq pela bolsa de doutorado e a Capes pela bolsa de estágio no exterior concedida.

Ao meu orientador, Miguel Dall'Agnol, pela amizade, pelo empenho em passar seus conhecimentos e experiências e pelo constante auxílio e incentivo.

Ao meu orientador no exterior, Jérôme Salse, que me acolheu de braços abertos durante os dez meses que estive estudando na França, pela imensa ajuda e confiança em mim depositada.

Aos professores e pesquisadores participantes da banca examinadora pelas valiosas contribuições, tanto antes como depois da Defesa.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Análise Genética, Paula, Ricardo, Joaquim, Marcelo Steiner, Aline, Vilmar, Emerson, Raquel, Juliana, Marcelo e em especial Armando M. dos Santos pela intensa ajuda e colaboração, e aos bolsistas, Fernanda Guedes, Vladirene, Miriam, Everton, Andrea, Kátia, Luciano, Luciana, Marcos, Letícia e Joel pela ajuda nas avaliações, pesagens e tabulação de dados.

As colegas e amigas do Laboratório de Citogenética e Eletroforese, Ionara, Nair, Carine e, especialmente, Viviane Pretz pela dedicação e empenho na parte de isoenzimas.

Ao pessoal do Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Departamento de Plantas de Lavoura, Tatiana Terra, Naracelis, Fábio, Jonathan e em especial Paula Wiethölter pela grande ajuda durante os períodos negros e inexplicáveis da parte molecular.

Aos pesquisadores e estagiários da antiga *Unité d'Amélioration et Santé des Plantes – ASP/ Inra /Clermont-Ferrand*, especialmente Caroline Pont, Stéphanie Bolot, Véronique De Conto e Antoine Tardif pela amizade, aprendizado e por me apresentarem as belezas e delícias da França com tanto entusiasmo.

Ao Professor Paulo Carvalho e a Laíse Pontes por tornar possível meu estágio de doutorado e pela inestimável ajuda durante minha estada no exterior.

Aos meus pais, Nilva e Rogério, e ao meu noivo, Cícero Damiani, pelo eterno amor, incentivo e apoio nos momentos difíceis, e pela grande força financeira após o término da bolsa.

Aos meus irmãos, Emanuel e Marcelo, pela amizade e ajuda durante a correria da elaboração da Tese.

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

Agradeço a Deus, pelo que sou, pela família e amigos que tenho, e pelo marido lindo que terei em breve, aos quais dedico este trabalho.

# ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA E AVALIAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS ASSOCIADAS À TOLERÂNCIA À SECA EM DIFERENTES GENÓTIPOS DE TREVO BRANCO (*Trifolium repens* L.)<sup>1</sup>

Autora: Fernanda Bortolini

Orientador: Miguel Dall'Agnol

## RESUMO

O trevo branco (*Trifolium repens* L.) é uma das mais importantes leguminosas forrageiras de regiões temperadas do mundo, sendo uma das espécies mais utilizadas em pastagens durante o inverno e primavera no Rio Grande do Sul, mas que apresenta problemas de persistência, principalmente no verão, devido às altas temperaturas e à baixa disponibilidade de água nesse período. O objetivo desse trabalho foi analisar a diversidade genética entre os acessos da coleção nuclear de trevo branco proveniente do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) através de marcadores isoenzimáticos e microssatélites, além de avaliar o efeito da disponibilidade hídrica (90 e 50% da umidade de capacidade de campo do solo) sobre características morfofisiológicas de uma subamostra da coleção. Os acessos foram analisados através de 18 bandas isoenzimáticas (esterase) e nove locos microssatélites (SSR), os quais foram eficientes para detectar a alta diversidade genética existente entre os acessos. Um total de 70 fragmentos de microssatélites foram analisados, obtendo-se uma média de 7,8 alelos por loco e um conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) variando de 0,26 a 0,86, com média de 0,67. A distância genética média através do coeficiente de Nei para os dados de esterase foi 0,73, variando de 0 a 1,79, evidenciando cinco grupos formados para os 47 acessos analisados, enquanto que para os SSR a distância média foi de 0,68, variando de 0,18 a 2,25, classificando os 81 acessos em sete grupos. Em relação à tolerância à seca, verificou-se interação genótipo x nível de água para 12 das 23 variáveis medidas na primeira avaliação e 19 das 32 variáveis analisadas na segunda. Os acessos que se destacaram sob déficit hídrico foram o 75 e o 74, os quais triplicaram e dobraram, respectivamente, a eficiência do uso da água, apresentando maior média de comprimento de entrenós e conseqüentemente, maiores produções de matéria seca de parte aérea. Portanto, esse trabalho representa uma contribuição no estudo da variabilidade genética e na caracterização dos acessos que compõem a coleção nuclear da espécie, tanto através de marcadores bioquímicos e moleculares, como através de marcadores morfofisiológicos sob condições de estresse hídrico.

---

<sup>1</sup> Tese de Doutorado em Zootecnia – Plantas Forrageiras, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (198p.) Junho, 2008.

# GENETIC DIVERSITY ANALYSIS AND EVALUATION OF MORPHOPHYSIOLOGICAL TRAITS ASSOCIATED WITH DROUGHT TOLERANCE IN DIFFERENT GENOTYPES OF WHITE CLOVER (*Trifolium repens* L.)<sup>2</sup>

Author: Fernanda Bortolini

Adviser: Miguel Dall'Agnol

## ABSTRACT

White clover (*Trifolium repens* L.) it is one of the most important forage legumes in temperate regions of the world, being one of the most used species in pastures during the winter and spring in Rio Grande do Sul, which has persistence problems, mainly in the summer, due to the high temperatures and the low water availability in that period. The work was aimed to analyze the genetic diversity among the accessions from the white clover core collection obtained from the United States Department of Agriculture (USDA) through isozymes and microsatellite markers, besides evaluating the effect of water availability (90 and 50% of the soil moisture field capacity) on morphophysiological traits of a sample of the collection. The accessions were analyzed through 18 isozyme bands (esterase) and nine microsatellites loci (SSR), which were efficient to detect the high existent genetic diversity among the accessions. A total of 70 SSR fragments was analyzed, obtaining an average of 7,8 alleles per locus and, a PIC varying from 0,26 to 0,86, with average of 0,67. The medium genetic distance through Nei's coefficient for the esterase data was 0,73, varying from 0 to 1,79, evidencing five groups formed for the 47 analyzed accessions, while for SSR the medium distance was 0,68, varying from 0,18 to 2,25, classifying the 81 accessions in seven groups. In relation to drought tolerance, there was interaction genotype x level of water for 12 of the 23 measured variables in the first evaluation, and 19 of the 32 variables analyzed in the second. The best accessions under water deficit were 75 and 74, which triplicate and double, respectively, the water use efficiency, showing larger internodes length and consequently larger productions of MSPA. Therefore this work represents a contribution to the study of the genetic variability and to the characterization of the accessions of the core collection of the specie, through biochemical and molecular markers, as well as through morphophysiological markers under water stress conditions.

---

<sup>2</sup> Doctoral thesis in Forage Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (198p.) June, 2008.

## SUMÁRIO

	Página
<b>CAPÍTULO I</b>	
1.1. Introdução .....	02
1.2. O trevo branco e o déficit hídrico.....	07
1.3. Análise da diversidade através de marcadores isoenzimáticos.....	17
1.4. Análise da diversidade através de marcadores microssatélites (SSR).	22
1.5. Hipóteses e objetivos de estudo.....	30
<b>CAPÍTULO II - Avaliação inicial de características morfofisiológicas associadas à tolerância à seca em diferentes genótipos da coleção nuclear de trevo branco (<i>Trifolium repens</i> L.)</b>	
Resumo .....	33
Abstract .....	34
Introdução.....	35
Material e Métodos.....	37
Resultados e Discussão .....	39
Conclusões .....	46
Referências.....	47
<b>CAPÍTULO III - Avaliação de características morfofisiológicas associadas à tolerância à seca em diferentes genótipos da coleção nuclear de trevo branco (<i>Trifolium repens</i> L.)</b>	
Resumo .....	49
Abstract .....	50
Introdução.....	51
Material e Métodos.....	52
Resultados e Discussão .....	55
Conclusões .....	68
Literatura Citada.....	69
<b>CAPÍTULO IV - Análise da diversidade genética entre 81 acessos da coleção nuclear de trevo branco (<i>Trifolium repens</i> L.) através de marcadores isoenzimáticos e microssatélites</b>	
Resumo .....	72
Abstract .....	73
Introdução.....	74
Material e Métodos.....	76
Resultados e Discussão .....	82
Conclusões .....	93
Referências.....	94
<b>CAPÍTULO V</b>	
5.1. Considerações Gerais .....	99
5.2. Referências Bibliográficas .....	101
5.3. Apêndices .....	108
5.4. Vita.....	198

## RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
<b>CAPÍTULO II</b>	
1. Identificação dos acessos da coleção nuclear de trevo branco.....	37
2. Médias dos acessos para ambas as disponibilidades hídricas e índices de tolerância para AF e MSPA na primeira avaliação e MSPA na segunda avaliação e MSPA total (soma dos dois cortes).....	44
<b>CAPÍTULO III</b>	
1. Identificação dos acessos pertencentes à coleção nuclear de trevo branco.....	53
2. Médias e índices de tolerância para Área foliar total na segunda avaliação e produção de matéria seca de parte aérea total na primeira avaliação (MSPA c1) e na segunda avaliação (MSPA c2) e total (MSPA total = soma dos dois cortes).....	67
<b>CAPÍTULO IV</b>	
1. Identificação dos acessos de trevo branco, país de origem e estado de melhoramento.....	76
2. Padrões de zimograma entre 47 acessos de <i>Trifolium repens</i> .....	83
3. Seqüência e grupo de ligação de 10 iniciadores de microsatélite testados em 81 acessos de trevo branco.....	86

## RELAÇÃO DE FIGURAS

Página

### CAPÍTULO II

1. Comprimento de estolão primário (no segundo corte) e produção de matéria seca de parte aérea total (soma dos dois cortes) de sete acessos de trevo branco, submetidos a 40 e 90% da umidade de capacidade de campo do solo..... 40
2. Taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência do uso da água de sete acessos de trevo branco, submetidos a 40 e 90% da umidade de capacidade de campo do solo..... 41

### CAPÍTULO III

1. Produção de matéria seca de parte aérea total (soma dos dois cortes) de 18 acessos de trevo branco, submetidos a 50 e 90% da umidade de capacidade de campo do solo..... 57
2. Partição da biomassa ( $M_{Stotal}$ ) dos 18 acessos de trevo branco sob condição de estresse hídrico (50%) e sob alta disponibilidade hídrica (90%)..... 58
3. Área foliar de uma folha (3 folíolos) e comprimento médio de estolões primários de 18 acessos de trevo branco, submetidos a 50 e 90% da umidade de capacidade de campo do solo..... 59
4. Taxa fotossintética de 18 acessos de trevo branco, submetidos a 50 e 90% da umidade de capacidade de campo do solo..... 60
5. Condutância estomática e eficiência do uso da água de 18 acessos de trevo branco, submetidos a 50 e 90% da umidade de capacidade de campo do solo..... 61

### CAPÍTULO IV

1. Dendrograma de dados binários de isoenzimas baseado na distância de Nei para 47 acessos de trevo branco. A linha tracejada indica a similaridade média e o ponto de corte do dendrograma..... 85
2. Dendrograma baseado na distância genética de Nei 1972 para dados de microssatélites entre 81 acessos de trevo branco. A linha tracejada indica a distância média e o ponto de corte do dendrograma..... 88



## RELAÇÃO DE QUADROS

	Página
<b>CAPÍTULO II</b>	
1. Correlações entre as variáveis na primeira avaliação, nos tratamentos 40 e 90% da CC.....	42
2. Correlações entre as variáveis na segunda avaliação, nos tratamentos 40 e 90% da CC.....	43
<b>CAPÍTULO III</b>	
1. Correlações entre as variáveis na primeira avaliação, nos tratamentos 50 e 90% da CC.....	64
2. Correlações entre as variáveis na segunda avaliação, nos tratamentos 50 e 90% da CC.....	65

## RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

A.....	Taxa fotossintética líquida / Número de alelos por loco
AF.....	Área foliar total da planta
AFLP.....	Polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados
AF1folha.....	Área foliar de uma folha
CEN.....	Comprimento de entrenós
CES.....	Comprimento de estolão
cM.....	Centimorgans
CF.....	Comprimento do folíolo central
CP.....	Comprimento do pecíolo foliar
CPed.....	Comprimento do pedúnculo floral
EEN.....	Espessura de entrenó
EP.....	Espessura do pecíolo foliar
EPed.....	Espessura do pedúnculo floral
EST.....	Estatura
g.....	Condutância estomática
HAB.....	Hábito de crescimento
LAR.....	Largura da planta
LF.....	Largura do folíolo central
MS.....	Matéria seca
MSEexc.....	Produção de matéria seca do estolão que ultrapassou o vaso
MSF.....	Produção de matéria seca de folhas vivas
MSFS.....	Produção de matéria seca de folha senescente
MSPA.....	Produção de matéria seca da parte aérea
MSPAtotal.....	Produção de matéria seca da parte aérea total (soma dos 2 cortes)
MSR.....	Produção de matéria seca de raiz
NES1.....	Número de estolões primários
NES2.....	Número de estolões secundários
NES3.....	Número de estolões terciários
NES4.....	Número de estolões quaternários
NEStotal.....	Número total de estolões
NFV.....	Número de folhas vivas
NFS.....	Número de folhas senescentes
NI.....	Número de inflorescências
NN.....	Número de nós do maior estolão
pb.....	Pares de bases
PCR.....	Reação em cadeia da polimerase
PIC.....	Conteúdo de informação de polimorfismo
QTL.....	<i>Quantitative trait loci</i>
RAPD.....	Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso
RFLP.....	Polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição de DNA
Tr.....	Transpiração
VR.....	Volume de raiz
EUA.....	Eficiência do uso da água

## **CAPÍTULO I**

## 1.1 Introdução

O gênero *Trifolium* é um dos maiores da família das leguminosas. O nome do gênero refere-se a folhas distintas, geralmente compostas de três folíolos (Zohary & Heller, 1984), sendo que pelo menos 16 espécies de *Trifolium* são ativamente cultivadas, tendo se tornado extensivamente naturalizadas mundialmente (Gillett & Taylor, 2001).

O trevo branco (*Trifolium repens* L.), espécie alógama, alotetraplóide ( $2n=4x=32$ ) e autoincompatível, é uma das mais importantes leguminosas forrageiras de regiões temperadas do mundo (Williams, 1987), sendo originária da região do Mediterrâneo. Apresenta ampla variação de adaptação climática, alta qualidade nutricional e capacidade de fixar nitrogênio atmosférico (Zohary & Heller, 1984), podendo ser encontrado em qualquer continente (Gibson & Hollowell, 1966). Sua ampla distribuição, ligada a sua natureza alógama, tem originado essa extensa variação adaptativa, principalmente em resposta a fatores climáticos (Garcia, 1995).

No Rio Grande do Sul, é uma das espécies mais utilizadas em pastagens consorciadas durante o inverno e primavera, tanto pelo seu alto rendimento como pela sua qualidade de forragem (Nabinger, 1980). Além disso, devido à estacionalidade da produção de massa de forragem das pastagens nativas durante o inverno, o trevo branco apresenta um importante papel na manutenção da alta produção de matéria seca com qualidade de forragem, minimizando a perda de peso dos animais e, conseqüentemente, as perdas da pecuária nesse período. Apesar disso, o trevo branco apresenta problemas de persistência, principalmente no verão, devido às altas

temperaturas e à baixa disponibilidade de água nesse período, podendo comporta-se como espécie anual de ressemeadura natural em situações extremas (Paim & Riboldi, 1994).

Segundo Woodfield & Caradus (1994), as mais de seis décadas de melhoramento vegetal têm resultado em um significativo aperfeiçoamento genético do trevo branco, o qual vem sendo melhorado desde 1930 (Mather et al, 1995). Os programas de melhoramento desta espécie em diferentes países têm, como ponto comum, a busca de cultivares mais persistentes, seja através da sobrevivência de estolões ou da maior produção de sementes, para garantir a presença das plantas nas pastagens (Caradus & Williams, 1988). De acordo com Caradus (1995), os objetivos do melhoramento da espécie incluem adaptação a solos ácidos e com pouco fósforo, tolerância à salinidade e à seca, alto rendimento de sementes, resistência à geada com bom crescimento no início da primavera, melhoria da persistência sem afetar o rendimento, resistência a pragas e doenças causadas por vírus e por nematóides que invadem a raiz, entre outros. Diversos trabalhos têm sido realizados a fim de conhecer as respostas das leguminosas, mais especificamente do trevo branco, aos estresses bióticos e abióticos. Conforme Bray et al. (2000), o déficit hídrico e a salinidade são os dois maiores fatores ambientais que determinam a produtividade e a distribuição das plantas. As plantas podem “perceber” os estresses abióticos e apresentarem respostas apropriadas através de alterações no metabolismo, crescimento e desenvolvimento. Devido ao fato que estresses hídricos e salinos ocorrem freqüentemente e podem afetar a maioria dos habitats, as plantas desenvolvem diversas estratégias para

enfrentar essas adversidades, ou seja, mecanismos de adaptação, os quais as permitem sobreviver às condições adversas, ou hábito de crescimento específico para evitar condições de estresse. Plantas tolerantes ao estresse desenvolvem certos mecanismos adaptativos manifestando diferentes graus de tolerância, os quais são basicamente determinados pela plasticidade genética. Tolerância diferencial ao estresse pode ser atribuída a diferenças na reação da planta em termos de percepção do estresse, sinal de tradução e programas de expressão gênica adequados, ou diferentes rotas metabólicas que são restritas as plantas tolerantes (Bartels & Sunkar, 2005).

Como a variabilidade genética é um pré-requisito para o melhoramento genético de uma espécie (Chowdhury & Slinkard, 2000), o conhecimento da variação genética entre os acessos pertencentes a uma coleção tem importância direta para o manejo dessa como um todo (Gilbert et al., 1999), podendo ser extremamente útil para identificar acessos representativos a serem considerados pelos melhoristas (Charcosset & Moreau, 2004). Uma das principais formas de acessar a variabilidade é através de coleções de germoplasma, pois elas representam grande parte da diversidade da espécie. A coleção nuclear é um grupo de acessos que representa a diversidade genética de uma coleção original. De modo geral, a coleção nuclear possui de 10% a 15% do tamanho e representa mais de 70% da variabilidade genética da coleção original (Faleiro, 2007). No caso da coleção nuclear de trevo branco utilizada neste estudo, proveniente do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) no ano de 2000, é formada por 78 acessos, os quais representam um total de 797 acessos da

coleção que lhe deu origem. Entretanto, a composição de coleções nucleares não tem como objetivo a substituição de uma coleção-base ou coleção ativa, nem mesmo de uma coleção de trabalho muito especializada. Um dos principais objetivos é facilitar e viabilizar a caracterização e a avaliação de acessos de bancos de germoplasma, o que é fundamental e subsidia a utilização prática de tais recursos genéticos e sua incorporação em programas de melhoramento, estimulando a utilização dos recursos genéticos com maior eficiência (Faleiro, 2007).

Tradicionalmente, os melhoristas têm utilizado descritores morfológicos para descrever a variabilidade genética, mas atualmente diversas técnicas têm sido utilizadas para acessar essa variabilidade. Marcadores moleculares permitem selecionar características desejáveis baseadas no genótipo ao invés do fenótipo podendo, portanto, complementar e acelerar os programas de melhoramento de plantas. Podem também ser usados para a seleção precoce de características que não são expressas durante a fase juvenil, tais como persistência, habilidade competitiva e rendimento de sementes (Faleiro, 2007). Tanto os marcadores isoenzimáticos quanto os microssatélites (SSR) têm sido amplamente utilizados para acessar a diversidade tanto do gênero *Trifolium* como de trevo branco e ambos os marcadores tem a vantagem de serem de natureza co-dominante, permitindo a identificação de indivíduos heterozigotos e gerando, desse modo, grande quantidade de informação.

Quando uma coleção é caracterizada por uma ou poucas características, existe uma menor oportunidade de se entender os

relacionamentos entre as diferentes características apresentadas por essa coleção Brown (1989). Entretanto, quando são utilizadas várias características se estendem as possibilidades de evidenciar diferenças genéticas em um amplo espectro. Portanto, o presente estudo representa uma contribuição no estudo da variabilidade genética e na caracterização molecular e morfofisiológica, dos acessos que compõem a coleção nuclear da espécie. Essa contribuição visa acrescentar uma maior eficiência aos programas de melhoramento, ao auxiliar na seleção precoce e na utilização dos recursos genéticos disponíveis, além de determinar características morfofisiológicas relacionadas à resposta ao déficit hídrico, a fim de obter genótipos tolerantes e, com isso, mais persistentes para serem utilizados no Rio Grande do Sul.



## 1.2 O trevo branco e o déficit hídrico

O trevo branco é mais sensível ao déficit de água no solo do que as outras leguminosas perenes, devido à pequena profundidade do sistema radicular de seus estolões e ao pequeno controle da transpiração. Boas condições de umidade e/ou o excesso hídrico aumentam sua produção de forragem e reduzem seus rendimentos de sementes, sendo o teor de umidade ótimo para produzir sementes menor do que para a produção de forragem (Garcia et al., 2000). Os principais fatores envolvidos na baixa persistência dessa leguminosa são principalmente de origem climática, tais como as elevadas temperaturas estivais associadas a déficits hídricos superficiais (Arana et al., 2000).

No Rio Grande do Sul, o trevo branco é uma das espécies de leguminosas mais utilizadas em pastagens consorciadas durante o inverno e primavera. Em regiões mais frias e com boa distribuição de chuvas, vegeta o ano inteiro. Porém, apresenta um período de produção reduzido em regiões mais quentes e sujeitas a estiagens e, ainda, comporta-se como espécie anual de ressemeadura natural em situações extremas (Paim & Riboldi, 1994). Iannucci et al. (2002) afirmam que os trevos anuais são forrageiras comuns nas áreas do Mediterrâneo, mas apresentam rendimentos de forragem e sementes reduzidos pelas altas temperaturas de verão e estresse hídrico que ocorrem durante a primavera e verão. Segundo Paim (1988), o problema do trevo branco neste Estado é sua baixa persistência, devido às altas temperaturas do verão e à baixa disponibilidade de água nesse período, principalmente na região da Campanha. De acordo com Seker et al. (2003), o decréscimo de

produtividade é apenas uma das respostas ao estresse. Conforme Piano & Annicchiarico (1995), a persistência de ecótipos de trevo branco está possivelmente associada com a densidade de estolões, a produção de matéria seca e ao comprimento dos entrenós. De acordo com Rhodes et al. (1994), os parâmetros mais importantes para persistência e rendimento de trevo branco sob pastejo são o comprimento e densidade de estolão e a área foliar. Segundo Seker et al. (2003), a plasticidade dessa espécie resulta em mudanças no hábito da planta em resposta a diferentes estresses ambientais. A fim de caracterizar essas mudanças morfológicas associadas com a plasticidade dos clones de trevo branco, os autores submeteram 90 clones a quatro diferentes tratamentos: sem corte, ou cortes com intervalos de sete dias, e barreiras para enraizamento do estolão, ou ausência de barreira. Os clones foram medidos para as seguintes características: peso da matéria seca (PS) de folha, de estolão e de raiz, comprimento de estolão e número de ápices do estolão com comprimento  $\geq 1$ cm, além do PS de forragem (PS de folha + PS de estolão), PS de biomassa (PS de raiz + PS de forragem), relação folha:caule (PS de folha / PS de estolão) e relação parte aérea:raiz (PS de forragem / PS de raiz). Os resultados mostraram que a média das plantas foi reduzida significativamente para todas as características com cortes repetidos. A barreira de enraizamento reduziu significativamente o número de ápices do estolão, PS de raiz, e relação folha:caule, enquanto aumentou o PS de estolão e a relação parte aérea:raiz. Em outras palavras, foram verificadas mudanças na relação entre algumas características das plantas expostas a diferentes estresses. Como conclusão, os autores afirmaram que a magnitude da

plasticidade parece ser um fenômeno clone-específico que pode mascarar os ganhos com seleção de progênes avaliadas em diferentes ambientes.

Segundo Sanderson et al. (2003), a persistência do trevo branco nas pastagens deve-se principalmente ao crescimento do estolão. Baseados nisso, os autores realizaram um estudo com o objetivo de documentar os efeitos de estresses bióticos (insetos, fungos, larvas) e abióticos (seca e alta temperatura) no crescimento e complexidade do estolão. Os resultados sugeriram que o clima e estresses bióticos são os principais fatores que controlam a oscilação na densidade de estolão de trevo branco em pastagens do nordeste dos EUA. É necessário um manejo que mantenha um grande comprimento e massa de estolões, para auxiliar na persistência e competitividade da espécie (Sanderson et al., 2003).

A persistência do trevo branco sob condições de seca pode ser melhorada pelo aumento da oferta de fósforo às plantas (Singh & Sale, 1998), que promove o aumento do número de folhas pequenas e de ramificações do estolão dessas plantas (Singh & Sale, 1997a), além de melhorar a eficiência do uso da água e a tolerância à seca de plantas desfolhadas regularmente, pelo decréscimo na taxa de transpiração diária por unidade de área foliar em solo seco (Singh et al., 2000a). Segundo Wilkinson et al. (1998), a característica chave da tolerância de plantas à seca é o efetivo fechamento estomático prevenindo a perda de água pela transpiração e mantendo, assim, o potencial de água na parte aérea, apesar da redução da disponibilidade de água no solo. Para Singh et al. (1972), a prolina, que é um aminoácido não protéico, seria o melhor indicador de tolerância à seca nas plantas. Recentemente tem sido

considerada como um osmoprotetor, com elevada produção, como nas plantas de trevo com alta concentração de fósforo, resultando no aumento da tolerância para estresses osmóticos e ambientais (Yoshida et al., 1997).

Singh et al. (2000a), estudando as respostas da concentração de fósforo em folhas de trevo branco, sob condições de seca, verificaram que o melhor controle da transpiração em plantas com alta concentração de fósforo foi associado ao aumento de área foliar individual e à eficiência no uso da água. Por outro lado, a grande transpiração de plantas com baixa concentração de fósforo foi associada a um pobre controle estomático da perda de água na transpiração, menos ácido abscísico (ABA) nas folhas quando expostas a solos secos, e a um pequeno tamanho e espessura das folhas, comparado às folhas com alta concentração de fósforo. Os autores ressaltam também que, sob condições de seca, a concentração de fósforo na folha está positivamente relacionada com o ácido abscísico da folha, e negativamente com as taxas de transpiração. Contudo, o ABA não está proximoamente relacionado com essa última, sugerindo que a concentração de fósforo na folha tem maior influência nas taxas de transpiração do que o ABA.

Conforme Singh et al. (2000b), plantas crescendo em solos com baixa concentração de fósforo mostram severos sintomas de murcha com dessecação e morte de folhas e estolões, e alguma eventual mortalidade. Entretanto, plantas freqüentemente desfolhadas com oferta adequada de fósforo apresentam um mínimo sintoma de murcha, mantendo alto potencial de água na folha e seguindo o crescimento em solos muito secos, extraindo consideravelmente mais água que as plantas com deficiência de fósforo.

Parece que o aumento da concentração de fósforo nas plantas induz a um ajuste osmótico que melhoraria sua tolerância à seca e recuperação, comparando com plantas de baixo fósforo. Nesse mesmo estudo, para examinar o efeito do aumento da oferta de fósforo no ajuste osmótico em relação às relações de água-solo-plantas e tolerância à seca de trevo branco desfolhado sujeito a um estresse hídrico em solo seco, Singh et al. (2000b) mediram as concentrações de açúcares solúveis, fósforo, potássio e prolina no tecido foliar. Obtiveram como resultados que as plantas com alta concentração de fósforo apresentaram grande ajuste osmótico, concentração de prolina e taxa de expansão foliar, enquanto que as plantas com baixa concentração de fósforo aumentaram a concentração osmótica quando não existiam mudanças no conteúdo de solutos totais por unidade de área, indicando maior perda de água do tecido foliar. Conforme os autores, as medidas-chaves que parecem estar diretamente associadas com o restabelecimento da planta sob um curto período de estresse hídrico são o aumento da concentração de prolina e a taxa de expansão foliar, provavelmente resultando do aumento da parede da célula em extensão ao invés do aumento da produção de células nas plantas com alta concentração de fósforo.

Dentre os vários métodos que podem ser usados para estudar o efeito da seca nas plantas, destaca-se a medida do potencial de água na folha. Esses autores, Marshall et al. (2001), estudando a introgressão do hábito rizomatoso de *Trifolium ambiguum* como uma rota para melhorar a tolerância à seca de trevo branco, com a finalidade de estabelecer se existem diferenças na tolerância à seca entre espécies parentais e os híbridos (duas gerações de

retrocruzamentos), mediram o conteúdo de umidade do solo, conteúdo relativo de água na folha e potencial de água na folha de plantas de trevo branco (estolonífero) e *T. ambiguum* (rizomatoso) submetidas a seis diferentes ciclos de seca. Os resultados mostraram diferenças significativas entre as espécies parentais e os híbridos em resposta à seca. *T. ambiguum* e a primeira e segunda gerações de retrocruzamento mantiveram um grande conteúdo relativo de água na folha e maior potencial de água na folha que trevo branco comparando os níveis de umidade do solo. A produção de matéria seca de trevo branco reduziu significativamente após cada ciclo de seca, comparando com os tratamentos mantidos em capacidade de campo, enquanto a produção de *T. ambiguum* aumentou em ambos os tratamentos. Os rendimentos das gerações de retrocruzamento foram intermediários às duas espécies parentais. Com isso, os autores concluíram que, embora esteja claro que existam diferenças na tolerância à seca entre *T. ambiguum* e *T. repens* e que existe um grau de tolerância à seca nos híbridos, a base precisa dessa tolerância ainda não está clara. Ressaltam os autores que trabalhos adicionais são necessários para estabelecer a base fisiológica da tolerância à seca nesses híbridos, quantificando o papel dos rizomas na tolerância à seca e estabelecendo se outros fatores como profundidade de raiz, densidade estomática e regulação estomática podem influenciar o potencial de água na folha e a tolerância à seca.

As dinâmicas de disponibilidade e uso da água são fatores essenciais para diferenciar plantas sobreviventes em uma pastagem (Lucero et al., 1999). Por existir grande diferença entre e dentro das espécies no grau de

adaptação ao déficit hídrico, é importante investigar as mudanças metabólicas envolvidas, pois o conhecimento das estratégias adaptativas das plantas ao estresse hídrico e suas bases fisiológicas pode servir para formular estratégias de melhoramento e manejo adaptadas às condições ambientais de áreas semi-áridas (Iannucci et al., 2002). Segundo os autores, as forrageiras nesses ambientes de zonas quentes temperadas do Mediterrâneo não são irrigadas e estão freqüentemente sujeitas aos efeitos das altas temperaturas e do déficit hídrico durante a primavera-verão, período em que podem reduzir bastante a produção de forragem e de sementes. No estudo conduzido por Iannucci et al. (2002), na cidade de Foggia, sul da Itália, a fim de investigar a variação interespecífica na capacidade de ajuste osmótico e a importante contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos em resposta ao estresse hídrico em folhas de quatro trevos anuais (*Trifolium alexandrinum* L., *T. incarnatum* L., *T. resupinatum* L., e *T. squarrosum* L.) sob condições de campo, verificaram que as espécies de trevo apresentam igual grau de tolerância à desidratação e, além disso, a existência de uma significativa relação entre os valores de potencial de água da folha e potencial osmótico da folha observados em todas as espécies, sugerindo a importância do processo de acúmulo de solutos em manter baixo o potencial de água, podendo envolver aumento seletivo de solutos particulares. Contudo, todas as espécies apresentaram mesmos valores de potencial osmótico da folha e, como consequência, valores similares de potencial de turgor para uma ampla variação no potencial de água da folha, evidenciando igual capacidade de osmorregulação. Plantas sob estresse hídrico mostraram um aumento na concentração de potássio, de açúcares

reduzidos e prolina, e um decréscimo no conteúdo de açúcares não reduzidos. Iannucci et al. (2002) concluíram que as espécies de trevo têm uma diferente sensibilidade à redução de água no solo e outras características fisiológicas e/ou morfológicas, tais como condutância foliar ou comprimento e profundidade de raiz, tendo que ser estudados para explicar o desempenho de cada espécie sob estresse hídrico.

McManus et al. (2000), num estudo comparando as respostas ao déficit hídrico de quatro genótipos de trevo branco, pertencentes ao cv. 'Grasslands Kopu' (suscetível à seca) e a uma linha melhorada 'Syrian selection' (tolerante à seca), verificaram que o pinitol é o açúcar solúvel presente em maior concentração em folhas "maduras" de trevo branco quando sujeitas a um déficit hídrico significativo. Ambos os genótipos acumularam pinitol, mas diferiram em relação à sua proporção no tecido de folha completamente hidratado e em tecidos que demonstraram mudanças significantes no potencial de água da folha, sendo que a linha tolerante à seca apresentou uma maior quantidade de pinitol do que a suscetível. Os autores sugerem, ainda, que outras características observadas nos genótipos 'Syrian selection' como, por exemplo, o pequeno tamanho de folha, deve atuar junto com o aumento da concentração de pinitol, conferindo essa vantagem adaptativa em lugares secos.

O trevo branco é normalmente estabelecido em associação com gramíneas, sendo que a escolha dessas depende da localização geográfica e da compatibilidade com o trevo (Pederson, 1995). O trevo ladino é uma forma gigante do trevo branco que é utilizada em áreas temperadas dos EUA,



principalmente em pastagens consorciadas (Hollowell, 1967). Este cultivar apresenta bom crescimento em associação com gramíneas perenes de estação fria, como a festuca (*Festuca arundinacea* Schreb.) e a faláris (*Phalaris aquatica*), e mesmo com gramíneas perenes de verão, como *Paspalum dilatatum* (Ball et al., 1996). Annicchiarico & Piano (2004) conduziram um estudo a fim de verificar se a densidade de estolão pode ser usada como um critério de seleção indireta para melhorar o desenvolvimento de raiz do trevo branco tipo ladino. Para isso obtiveram populações de estolões grossos e de estolões finos através de um ciclo de seleção fenotípica divergente dentro de uma população local e de uma natural de ladino. Avaliaram a relação entre desenvolvimento de raiz e tolerância à seca e, a consistência de resposta para características de raiz e plântula entre populações derivadas de mudas ou estolões cortados (clones). Os resultados mostraram uma relação positiva entre densidade de estolão e desenvolvimento de raízes, mas, segundo os autores, não houve nenhuma evidência de uma relação positiva entre desenvolvimento de raiz e tolerância à seca, uma vez que o peso seco de raízes aumentou sob estresse, particularmente em solo de horizonte profundo. Os autores acrescentaram ainda que esse aumento do peso seco de raízes sob estresse foi devido ao crescimento das raízes já existentes, ao invés da produção de novas raízes, pois a seca causou uma redução na porcentagem de nós enraizados. A distinção entre materiais originados por mudas e clones não teve efeito na resposta a seca. Annicchiarico & Piano (2004) sugerem a avaliação de somente um material vegetativo (mudas ou clones) para reunir informações sobre os sistemas de raízes das populações, pois as diferenças

entre populações foram consistentes para ambos os materiais vegetativos.

Portanto, os genótipos de trevo branco apresentam várias respostas ao estresse hídrico e, através da avaliação de algumas dessas respostas, será possível selecionar características que estejam ligadas à tolerância à seca, para a obtenção de genótipos tolerantes e, com isso, mais persistentes para serem utilizados no Rio Grande do Sul.

### **1.3 Análise da diversidade através de marcadores isoenzimáticos**

A variabilidade genética é um pré-requisito para o melhoramento genético de uma espécie (Chowdhury & Slinkard, 2000). O conhecimento da variação genética entre os acessos pertencentes a uma coleção tem importância direta para o manejo dessa como um todo (Gilbert et al., 1999), podendo ser extremamente útil para identificar acessos representativos a serem considerados pelos melhoristas (Charcosset & Moreau, 2004).

As isoenzimas são diferentes formas moleculares de proteínas que exibem a mesma especificidade enzimática e foram, por várias décadas, os marcadores bioquímicos mais utilizados em análises genéticas e no melhoramento vegetal (Cavalli, 2003). Diferenças na mobilidade de isoenzimas em um campo elétrico são resultantes de diferenças ao nível de seqüências de DNA que codificam tais enzimas (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Diferentes isoenzimas são codificadas por diferentes alelos de um mesmo loco ou por diferentes locos. Isoenzimas codificadas por alelos de um mesmo loco são também denominadas aloenzimas (Cavalli, 2003).

De acordo com Ferreira & Grattapaglia (1998), os alelos isoenzimáticos são co-dominantes, isto é, genótipos heterozigotos e homozigotos de um determinado loco são facilmente identificados, permitindo estimar diretamente parâmetros tais como freqüências genotípicas, freqüências alélicas e, a partir desses, coeficientes de diversidade e heterozigosidade. Conforme Cavali (2003), embora em número limitado, vários locos podem ser analisados rápida e simultaneamente, além de ser uma técnica relativamente barata e tecnicamente acessível. No que diz respeito às limitações da análise

de isoenzimas, por serem produtos da expressão do gene, podem sofrer modificações pós-transcricionais, tanto de origem genética como ambiental, resultando em outras formas moleculares, dificultando a interpretação dos dados; podem subestimar o número de alelos por locos pelo fato de a técnica não detectar todas as substituições nucleotídicas que alteram a estrutura da enzima; e, em adição, segundo Ferreira e Grattapaglia (1998), há um número limitado de sistemas isoenzimáticos polimórficos (visualização de 10 a 20 em cada espécie), não permitindo a cobertura completa do genoma; pode haver especificidade de formas isoenzimáticas em alguns tecidos vegetais; e diferenças na atividade isoenzimática podem estar associadas a estágios diferentes de desenvolvimento.

Segundo Lewontin & Hubby (1966) as isoenzimas começaram a ser utilizadas como marcadores genéticos somente a partir de 1966 e, de acordo com Markert & Moller (1959), desde a sua resolução pelos métodos histoquímicos, esses marcadores têm sua principal aplicação em estudos de diversidade genética e evolução, tendo sido de grande importância para as investigações sobre variações intraespecíficas, genética de populações, e também na identificação de linhagens, cultivares e raças, sendo todas essas aplicações já realizadas em diversas espécies. Como, por exemplo, Chowdhury & Slinkard (2000), que investigaram a variabilidade genética de 348 acessos de *Lathyrus sativus* L. de dez regiões geográficas através do polimorfismo de 20 enzimas de 13 sistemas enzimáticos, entre eles a esterase, e verificaram alta diversidade genética dentro das espécies, sugerindo uso de um conjunto gênico primário como uma valiosa fonte de material genético para

o melhoramento dessa espécie.

Kongkiatngam et al. (1995), acrescentaram que isoenzimas têm provado ser marcadores genéticos confiáveis em estudos de genética e melhoramento vegetal, e têm sido amplamente usadas dentro de *Trifolium*. Por exemplo, Lange & Schifino-Wittmann (2000), em um estudo a fim de caracterizar e comparar 36 acessos pertencentes a oito espécies de *Trifolium* de interesse agrônomo no Sul do Brasil, através de quatro sistemas isoenzimáticos, verificaram alta variabilidade entre os acessos de trevo branco analisados e, através do índice de similaridade de Jaccard, obtiveram oito grupos, cada um correspondendo a uma espécie de *Trifolium*, concordando com a classificação taxonômica do gênero proposta por Zohary & Heller (1984). Malaviya et al. (2005) estudaram variações inter e intraespecíficas para padrões de zimogramas baseados em cinco sistemas enzimáticos, a fim de entender a afinidade entre espécies selvagens e cultivadas do gênero *Trifolium* e, verificaram a rica variabilidade presente entre as espécies estudadas, além de algumas espécies apresentarem zimogramas específicos que podem servir para identificação da espécie.

Em relação aos diferentes sistemas isoenzimáticos disponíveis, Lange & Schifino-Wittmann (2000), analisando quatro desses sistemas, verificaram que MDH (malato desidrogenase) e PGI (fosfoglucoisomerase NADP dependente) foram os mais conservadores, apresentando poucas bandas e/ou padrões de bandas, enquanto que as análises de EST (esterase) e SOD (superóxido dismutase) resultaram em mais bandas e padrões, além de serem os mais satisfatórios dos sistemas examinados para acessar a

variabilidade genética das espécies de *Trifolium* estudadas. As autoras acrescentaram ainda que a vantagem da esterase nesse tipo de análise é o grande número de bandas e a excelente estabilidade da técnica de coloração.

Polimorfismos de isoenzimas também têm sido usados para quantificar a variabilidade genética de cultivares/acessos de trevo-vermelho (Kongkiatngam et al., 1995; Mosjidis & Klingler, 2006 e Dias, 2007), e de trevo branco (Sawada & Yamouchi, 1994). Kongkiatngam et al. (1995) estimaram a variação genética dentro e entre dois cultivares de trevo-vermelho, através da avaliação de 40 plantas de cada cultivar utilizando 12 sistemas isoenzimáticos, os quais detectaram um total de 21 locos com 43 alelos. O cultivar europeu (Essi) apresentou 13 locos polimórficos e uma média de 1,81 alelos por loco, enquanto o cultivar canadense (Ottawa) apresentou nove locos polimórficos com uma média de 1,67 alelos por loco. Os autores verificaram ainda um alto nível de variabilidade intrapopulacional e afirmaram que os marcadores isoenzimáticos foram eficientes em estimar a variabilidade genética tanto entre como dentro de cultivares de trevo-vermelho. Mosjidis & Klingler (2006), a fim de caracterizar a coleção nuclear de trevo-vermelho através de isoenzimas, verificaram um total de dez locos isoenzimáticos com 30 alelos detectados por sete sistemas enzimáticos, entre eles esterase, em 80 acessos da coleção nuclear da espécie, evidenciando a grande quantidade de diversidade genética presente na coleção. Dias (2007), analisando a mesma coleção anterior para padrões de esterase, verificaram um total de 15 locos com 30 alelos e similaridade média de 0,30 entre os 80 acessos.

Segundo Malaviya et al. (2005), o estudo da variabilidade

intraespecífica e da similaridade interespecífica torna-se importante para o entendimento da provável evolução do gênero. Badr et al. (2002), analisando sete espécies de *Trifolium* através de dez sistemas isoenzimáticos, a fim de estudar o suposto ancestral de trevo branco, afirmaram que a origem do *T. repens* é um pouco obscura, pois essa espécie apresenta alelos compartilhados tanto com *T. nigrescens* e *T. uniflorum* (sustentando a hipótese de que os dois genomas do tetraplóide *T. repens* podem ter sido derivados de hibridizações entre as duas espécies anteriores) quanto com *T. occidentale* e *T. ishmocarpum* (sugerindo a possibilidade de uma introgressão de genes dessas últimas duas espécies para *T. repens*). Os autores acrescentam que a presença de alelos compartilhados entre essas cinco espécies pode refletir uma recente ancestralidade comum.

Portanto, isoenzimas são poderosos marcadores bioquímicos para acessar a variabilidade genética e têm sido utilizadas em estudos taxonômicos, genéticos, evolucionários e ecológicos (Lange & Schifino-Wittmann, 2000) e, por serem altamente polimórficos e apresentarem-se bastante estáveis, padrões de esterase foram utilizados neste estudo para analisar a diversidade entre os acessos de trevo branco.

#### **1.4 Análise da diversidade através de marcadores microssatélites (SSR)**

O primeiro requerimento para qualquer abordagem molecular visando acessar o germoplasma de uma coleção é a habilidade de distinção entre genótipos e acessos (Gilbert et al., 1999). O conhecimento da distância genética entre diferentes cultivares é muito utilizado nos programas de melhoramento de plantas, pois permite uma eficiente amostragem e utilização dos recursos genéticos (Kongkiatngam et al., 1996). Conforme Dolanská & Curn (2004), a avaliação da variação genética para espécies forrageiras alógamas é importante para o processo de identificação de cultivares e análise de pureza de sementes, análises ecológicas de população de pastagens, seleção de pais geneticamente divergentes para estudos de mapeamento e para a prática de melhoramento.

Existem muitas técnicas moleculares disponíveis para acessar a variabilidade genética de populações e indivíduos (Gilbert et al., 1999). Marcadores baseados no princípio do PCR (*Polimerase Chain Reaction* ou Reação e Cadeia da Polimerase), como o RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA* ou Polimorfismo do DNA Amplificado ao Acaso), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism ou Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos Amplificados) e microssatélites (*Simple Sequence Repeats* ou Seqüências Simples Repetidas ou SSR) têm sido desenvolvidos para acessar a variabilidade genética tanto ao nível intra como interespecífico (Kongkiatngam et al., 1996). De modo geral, marcadores moleculares multilocos utilizados em DNA *fingerprinting*, como RAPD, AFLP, microssatélites



e minissatélites, são mais apropriados para estudos de identidade genética, testes de paternidade e estudos de variabilidade dentro da mesma espécie. Marcadores baseados em comprimentos de fragmentos de restrição, como os RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphism) obtidos de DNA mitocondrial (mtDNA), DNA cloroplasmático (cpDNA) e DNA ribossomal (rDNA), são mais apropriados para estudos de diversidade genética de espécies fortemente relacionadas. Marcadores baseados em análise de seqüências como, por exemplo, PCR *sequencing*, são apropriados para análises de espécies com alto nível de divergência evolucionária, embora possam ser utilizados para análises de espécies ou acessos com qualquer nível de divergência evolucionária (Faleiro, 2007).

Os microssatélites são seqüências de um a seis nucleotídeos repetidos de 10 a 60 vezes em tandem ao longo da molécula de DNA, as quais são flanqueadas por seqüências conservadas (Zhivotovsky & Feldman, 1995); são altamente polimórficos devido ao alto nível de variação no número de repetições. Esses apresentam várias vantagens em relação a outros marcadores moleculares, sendo abundantes em muitos dos genomas e, geralmente, distribuídos uniformemente; são hipervariáveis e co-dominantes, portanto seu conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) é muito alto; são baseados no princípio do PCR, requerendo, desse modo, pouco DNA para a amplificação, além de cada loco de SSR ser definido por um único par de iniciadores, facilitando a troca de informação entre laboratórios. As únicas desvantagens estão relacionadas à necessidade de géis de alta resolução para explorar totalmente o conteúdo de informação dos SSRs e ao grande esforço

inicial requerido para clonar e seqüenciar os nucleotídeos que flanqueiam esses microsatélites (Gianfranceschi et al.,1998).

O uso de marcadores multialélicos e co-dominantes, ou seja, que detectem mais de um alelo por loco e permitem que os heterozigotos sejam diretamente discriminados dos homozigotos, para a análise de espécies heterozigotas alógamas, é extremamente útil, dado que permite que indivíduos sejam exclusivamente genotipados (Powell et al., 1996). Isso é particularmente importante para a identificação de cultivares e para o aprimoramento da caracterização de coleções de germoplasma e populações naturais, auxiliando na conservação eficaz dos recursos genéticos da espécie.

Morgante et al. (2002), analisando a distribuição dos SSRs entre regiões transcritas e não transcritas e a relação dessas características com o tamanho do genoma haplóide de *Arabidopsis thaliana*, arroz (*Oryza sativa*), soja (*Glycine max*), milho (*Zea mays*) e trigo (*Triticum aestivum*), verificaram que a freqüência de SSRs foi significativamente maior em ESTs (*expressed sequence tag*) do que em DNA genômico para todas as espécies estudadas. Os autores observaram também relação linear positiva e altamente significativa entre a freqüência de microsatélites e a porcentagem de DNA de cópia única das espécies, tanto para as repetições perfeitas quanto para as imperfeitas, indicando que, nessas plantas, a freqüência de SSR não se dá em função ao tamanho total do genoma, mas da proporção de DNA de cópia única que ele apresenta, e que os SSRs são mais abundantes em DNA de cópia única/baixa do que em DNA repetitivo. Assim sendo, os SSRs ocorrem em alta freqüência em regiões expressas do genoma de plantas. Li et al. (2002), estudando a

evolução dos SSRs, concluíram que a revisão realizada por eles mostra numerosas linhas de evidência disponíveis, as quais sugerem que a distribuição genômica dos SSR é ao acaso em regiões codificantes e não codificantes. Como uma parte significativa da estrutura dos SSRs é funcionalmente importante para transcrição gênica, translação, organização da cromatina, recombinação, replicação do DNA, sistema de reparo de DNA (MMR), ciclo celular, etc., a seleção parece atuar contra a aleatória expansão ou compactação de tamanho nas regiões genômicas correspondentes.

Uma das principais aplicações dos microssatélites é em estudos de diversidade genética e caracterização de germoplasma, tanto dentro como entre populações, cultivares, acessos e espécies (Cavali, 2003). A diversidade genética em trevo branco tem sido verificada através de diversos marcadores moleculares, tais como, RAPD (Gustine & Huff, 1999; Gustine & Sanderson, 2001; Gustine et al., 2002), AFLP (Kölliker et al., 2001a) e microssatélites (Dolanská & Curn, 2004). Esses últimos autores, visando avaliar e comparar a variação genética entre cultivares de trevo branco utilizando diferentes marcadores de DNA, como RAPD, SSR, DNA ribossomal e PCR-RFLP, concluíram que a análise de RAPD foi um método insatisfatório, devido ao alto polimorfismo dentro de uma população. Esse fato possibilitou, através do perfil obtido, a caracterização de um genótipo, mas não de uma população e que somente através da análise de SSR foi possível identificar diferentes populações de *Trifolium repens*. Quanto à análise de DNA ribossomal, devido aos específicos padrões obtidos para diferentes espécies do gênero *Trifolium*, confirmou ser satisfatória para estudos filogenéticos.

Marcadores moleculares têm sido usados com sucesso na construção de mapas genéticos de ligação e para a identificação e localização de genes economicamente importantes e *quantitative traits loci* (QTLs, denominação dada aos diversos locos envolvidos no caráter de herança quantitativa) em um grande número de espécies de plantas. Além disso, o alto conteúdo de informação dos microssatélites pode ser completamente aplicado ao mapeamento de QTL e no melhoramento em geral, aumentando o poder de tal análise (Gianfranceschi et al.,1998). Mais recentemente, as forrageiras têm ganhado atenção, mas genes importantes agronomicamente, os quais são em sua grande maioria de herança quantitativa, e QTLs têm somente sido caracterizados em poucas espécies. Esses autores, Kölliker et al. (2001b), visando desenvolver e caracterizar um amplo grupo de marcadores SSR de trevo branco que possam ser utilizados para identificar genes e QTLs que controlem características de interesse agrônômico, analisaram as seqüências de 1123 clones de bibliotecas genômicas enriquecidas para a repetição  $(CA)_n$  e encontraram 793 clones contendo locos SSR; desenharam pares de iniciadores para 117 locos de SSR e verificaram que os produtos de PCR foram amplificados para 101 locos, sendo esses marcadores altamente polimórficos, ou seja, 88% detectando polimorfismo em sete genótipos de trevo branco com um número de alelos médios de 4,8 por loco. Segundo os autores, os marcadores desenvolvidos nesse estudo não só fornecem ferramentas valiosas para o melhoramento de trevo branco, mas podem também ter aplicações em táxons relacionados. Acrescentam ainda que as possíveis aplicações desses marcadores abrangem a identificação de cultivares, análise da diversidade

genética para o mapeamento de características e seleção assistida por marcadores.

A partir do desenvolvimento e caracterização de centenas de marcadores SSR para *T. repens* por Kölliker et al. (2001b), o número de trabalhos na espécie tem aumentado, além dos estudos estarem atualmente em nível de mapeamento genético e identificação de QTLs para características de interesse agrônômico. Jones et al. (2003) construíram o primeiro mapa genético de ligação para trevo branco através de marcadores SSRs derivados de DNA genômico e AFLP, com base em uma população F2 (I.4RxI.5J). O mapa consiste de 135 marcadores, sendo 78 locos SSR e 57 locos AFLP, ordenados em 18 grupos de ligação. O comprimento total do mapa é de 825 cM, onde cada grupo de ligação varia de 13 a 92 cM, com um intervalo médio entre marcadores de 7 cM. Os autores ressaltam que 16 desses grupos de ligação provavelmente correspondam aos 16 cromossomos do cariótipo da espécie. O segundo mapa genético de ligação foi construído por Barrett et al. (2004), utilizando SSRs derivados de EST (*expressed sequence tag*), por ocorrerem em alta frequência nos genomas e apresentarem maior “transferibilidade” interespecífica que os SSRs genômicos. O mapa estimado inclui 493 locos SSR e um marcador morfológico, distribuídos em 16 grupos de ligação e mede 1144 cM do genoma nuclear de trevo branco. Os grupos de ligação variaram de 60 a 94 cM de comprimento e apresentaram 14 a 52 locos por grupo. A densidade do mapa variou de 1,6 cM a 4,2 cM por locos entre os 16 grupos, com média de 2,3 cM por marcador, indicando ser um mapa de densidade média. Os 16 grupos de ligação provavelmente correspondam aos

16 pares de homólogos observados em cariótipo mitótico da espécie. Os autores acrescentam que esse estudo descreve a primeira implementação de EST-SSRs em larga escala para a análise de ligação genética em um genoma alopoliplóide e que *T. repens* passa a ser a única espécie *Trifolieae* mapeada exclusivamente com SSRs.

O mais recente mapa genético foi construído por Zhang et al. (2007), utilizando marcadores SSR baseados em seqüências de várias espécies de *Trifolieae*, incluindo trevo branco, trevo vermelho, *Medicago truncatula* e soja [*Glycine max* (L.) Merr]. O mapa consiste de 415 locos amplificados de um total de 343 pares de iniciadores, incluindo 83 de trevo branco, 181 de trevo vermelho e 77 de *M. truncatula* e dois de soja. Grupos de ligação de todos os oito pares de cromossomos homeólogos do alotetraplóide trevo branco foram detectados. O comprimento do mapa foi estimado em 1877 cM, com 87% de cobertura do genoma e a densidade do mapa foi de aproximadamente 5 cM por loco. Os autores afirmam também que a comparação da localização dos marcadores no mapa revelou provável macro-colinearidade, ou seja, conservação na ordem dos genes, entre as três espécies *Trifolieae*. Esse mapa pode ser usado para ligar QTLs com marcadores SSR e acelerar o melhoramento de trevo branco através da seleção assistida por marcadores.

De acordo com Kölliker et al. (2006), a análise genômica e a genética molecular em leguminosas avançaram rapidamente nos últimos anos, com uma atenção especial nas duas espécies modelo, *Lotus japonicus* e *Medicago truncatula*. Cogan et al. (2006) realizaram análises fenotípicas para uma gama de características vegetativas (tais como área foliar, comprimento

de entrenó, estatura e diâmetro da planta) e características de desenvolvimento reprodutivo (tais como data de florescimento, intensidade floral e rendimento de sementes), com repetições no espaço e no tempo. Foram realizadas análises combinadas multiambientes para as características avaliadas em diversos ambientes, a fim de identificar efeitos genéticos consistentes. Os autores detectaram QTLs para a maioria das características e a localização e magnitude dos efeitos do QTL foram comparadas entre análises individuais e combinadas. Essa disseção genético molecular de características agronômicas em trevo branco fornece a base para estudos equivalentes em populações mais complexas, planejamento de estratégias para seleção assistida por marcadores e genética comparativa com leguminosas modelo. A seleção de QTLs derivados de análises combinadas permitirá robusto melhoramento de características fenotípicas em diferentes ambientes. Segundo esses autores, marcadores moleculares proximamente ligados a genes de características agronômicas são ainda pré-requisitos para o melhoramento de trevo branco baseado em marcadores moleculares.

## 1.5 Hipóteses e Objetivos

O germoplasma utilizado neste trabalho foi anteriormente caracterizado por Bortolini et al. (2006a e b), através de 24 iniciadores RAPD, além de 11 marcadores morfológicos em 17 plantas de cada acesso da coleção nuclear da espécie. A partir dos resultados obtidos, serão selecionados alguns acessos morfológicamente divergentes e avaliados sob diferentes disponibilidades hídricas. Espera-se que esse grupo apresente diferentes respostas morfológicas e fisiológicas sob diferentes disponibilidades hídricas e que possam ser relacionadas à tolerância à seca.

Por se tratar de uma espécie alógama e alotetraplóide, espera-se que tanto os marcadores isoenzimáticos como os microssatélites sejam capazes de caracterizar a diversidade genética da coleção nuclear de trevo branco, assim como verificar a distribuição e a estruturação da diversidade entre grupos.

Os objetivos específicos são:

1. Analisar as características morfofisiológicas de diferentes acessos pertencentes à coleção nuclear de trevo branco, submetidos a diferentes déficits hídricos.
2. Determinar quais as características morfológicas e fisiológicas são relacionadas à tolerância do trevo branco à seca.
3. Quantificar a diversidade genética presente na coleção nuclear de trevo branco.
4. Verificar a distribuição e estruturação da diversidade ao nível interpopulacional e entre grupos, de acordo com a origem e estado de



melhoramento dos acessos.

O presente trabalho está apresentado na forma de capítulos. O Capítulo I apresenta a introdução e a revisão da literatura, seguidos da hipótese e objetivos do presente estudo. Os capítulos II, III e IV cada um referente a um artigo, são apresentados na língua portuguesa e conforme as regras da revista à qual serão submetidos (apêndices 13, 14 e 15, respectivamente). O Capítulo II refere-se à avaliação inicial de características morfofisiológicas associadas à tolerância à seca. O Capítulo III trata da avaliação de características morfofisiológicas associadas à tolerância à seca. O Capítulo IV diz respeito à análise da diversidade genética utilizando marcadores isoenzimáticos e microssatélites. Finalizando o trabalho, o Capítulo V apresenta as conclusões gerais relativas ao conjunto de resultados obtidos. Logo após, seguem as referências bibliográficas relativas à introdução e à revisão bibliográfica do Capítulo I.

## **CAPÍTULO II**

### **AVALIAÇÃO INICIAL DE CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS ASSOCIADAS À TOLERÂNCIA À SECA EM SETE GENÓTIPOS DA COLEÇÃO NUCLEAR DE TREVO BRANCO (*Trifolium repens* L.)**

### **Avaliação inicial de características morfofisiológicas associadas à tolerância à seca em sete genótipos da coleção nuclear de trevo branco (*Trifolium repens* L.)<sup>3</sup>**

Fernanda Bortolini<sup>4</sup>; Miguel Dall'Agnol<sup>5</sup>; Carlos A. Bissani<sup>6</sup>

RESUMO – O trevo branco é uma leguminosa forrageira muito importante para utilização em pastagens temperadas no Rio Grande do Sul. Entretanto, em função da pequena profundidade do sistema radicular de seus estolões e de um baixo controle da transpiração, é mais sensível ao déficit de água no solo do que as outras leguminosas perenes, apresentando problemas de persistência no verão. Com o objetivo de determinar características morfofisiológicas relacionadas à resposta ao déficit hídrico dessa espécie, foi realizado um experimento em casa-de-vegetação, o qual avaliou o efeito da disponibilidade hídrica (90 e 40% da umidade de capacidade de campo do solo) sobre sete genótipos pertencentes à coleção nuclear de trevo branco, com quatro repetições, totalizando 56 vasos. Foram realizadas duas avaliações, aos 130 e aos 196 dias após a semeadura, onde foram medidos diversos parâmetros morfofisiológicos. A análise dos resultados indicou que o déficit hídrico teve um efeito marcante sobre a maioria das variáveis, como estatura (EST), área foliar (AF), número de folhas vivas (NFV), comprimento de estolão (CES), produção de matéria seca (MSPA), taxa fotossintética (A), condutância (g) e eficiência do uso da água (EUA). Nas duas avaliações, em ambas as disponibilidades hídricas, verificaram-se correlações positivas e altamente significativas ( $P < 0,01$ ) entre CES e NFV ( $r \geq 0,51$ ), assim como entre AF e EST ( $r \geq 0,62$ ). O acesso 1 foi o mais tolerante ao estresse hídrico, apresentando maior produção de MS sob alta disponibilidade hídrica, e uma das maiores produções de MS sob déficit hídrico. As características NFV e A poderiam ser usadas para a seleção precoce de plantas de trevo branco para tolerância ao estresse hídrico.

Palavras-chave: déficit hídrico, estresse hídrico, leguminosas forrageiras, melhoramento vegetal

---

<sup>3</sup> Artigo redigido nas normas da Revista Ciência Rural

<sup>4</sup> Bióloga, MSc., aluna de Doutorado PPGZootecnia/Plantas Forrageiras/UFRGS, Bolsista CNPq. E-mail: [ferbortolini@gmail.com](mailto:ferbortolini@gmail.com)

<sup>5</sup> Engenheiro Agrônomo, PhD, professor adjunto da Faculdade de Agronomia/Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia/UFRGS, bolsista do CNPq. Caixa Postal 15100, CEP: 91501-970, Porto Alegre, RS. E-mail: [migueld@ufrgs.br](mailto:migueld@ufrgs.br)

<sup>6</sup> Engenheiro Agrônomo, Dr., professor adjunto da Faculdade de Agronomia/Departamento de Solos/UFRGS.

**Initial evaluation of morphophysiological traits associated with drought tolerance in seven genotypes of the white clover core collection (*Trifolium repens* L.)**

ABSTRACT – The white clover is a forage legume very important for use in temperate pastures in Rio Grande do Sul. However due to the small depth of its root system and of a poor control of the transpiration, it is more sensitive to the water deficit in the soil than other perennial legumes, presenting a lack of persistence in the summer. With the objective of determining morphophysiological traits related to the answer to the water deficit of this species, an experiment was carried out in greenhouse, which evaluated the effect of water availability (90 and 40% of the soil moisture field capacity) on seven genotypes belonging to the nuclear collection of white clover, with four repetitions, totalling 56 pots. Two evaluations were made, at 130 and 196 days after the sowing, when several characteristics were measured. The analysis of the results indicated that the water deficit had an outstanding effect on most of the variables, such as plant height (PH), foliar area (FA), number of alive leaves (NAL), length of primary stolon (LPS), dry matter of the aerial part (DMAP), photosynthesis rates (A), conductance (g), and water use efficiency (WUE). In both evaluations, regardless the water availability, there were positive and highly significant correlations ( $P < 0,01$ ) between LPS and NAL ( $r \geq 0,51$ ), as well as between FA and PH ( $r \geq 0,62$ ). Therefore, the best access under stress was the 1, which presented larger productions of DMAP at the 90% level and one of the most productions of DMAP under stress. The NAL and the A are morphological traits that could be used for early white clover selection for tolerance to water stress.

Keywords: forage legumes, plant breeding water deficit, water stress

## Introdução

O trevo branco (*Trifolium repens* L.) é uma das mais importantes leguminosas forrageiras de regiões temperadas do mundo (WILLIAMS, 1987). No Rio Grande do Sul, apresenta problemas de persistência, principalmente no verão, devido às altas temperaturas e à baixa disponibilidade de água no solo nesse período (PAIM & RIBOLDI, 1994). Em função da pequena profundidade do sistema radicular de seus estolões e de um baixo controle da transpiração, o trevo branco é mais sensível ao déficit de água no solo do que as outras leguminosas perenes (GARCIA et al., 2000).

Conforme PIANO & ANNICCHIARICO (1995), a persistência dos ecótipos de trevo branco está possivelmente associada à densidade de estolões, à produção de matéria seca e ao comprimento de entrenó. De acordo com SANDERSON et al. (2003), a persistência dessa espécie nas pastagens deve-se principalmente ao crescimento do estolão. Sob condições de déficit hídrico, a persistência do trevo branco pode ser melhorada pelo aumento da oferta de fósforo às plantas (SINGH & SALE, 1998). A maior disponibilidade deste elemento promove o aumento do número de folhas pequenas e de ramificações do estolão dessas plantas (SINGH & SALE, 1997a), além de melhorar a eficiência do uso da água e tolerância à seca de plantas desfolhadas regularmente, pelo decréscimo na taxa de transpiração diária por unidade de área foliar em solo seco (SINGH et al., 2000a).

De acordo com IANNUCCI et al. (2002), as espécies de trevo têm diferente sensibilidade à redução de água no solo e outras características fisiológicas e/ou morfológicas, tais como condutância foliar ou comprimento e profundidade de raiz. São, por consequência, características que necessitam ser estudadas para explicar o desempenho de cada espécie sob estresse hídrico. McMANUS et al. (2000), num estudo comparando as respostas ao déficit hídrico de quatro genótipos de trevo branco, pertencentes ao cv.

‘Grasslands Kopu’ (suscetível à seca) e a uma linhagem melhorada ‘Syrian selection’ (tolerante à seca), verificaram que o pinitol é o açúcar solúvel presente em maior concentração em folhas “maduras” de trevo branco quando sujeitas a um déficit hídrico significativo. Os autores sugeriram ainda, que outras características observadas nos genótipos tolerantes como, por exemplo, o pequeno tamanho de folha, deve atuar junto com o aumento da concentração de pinitol, conferindo essa vantagem adaptativa em lugares secos. ANNICCHIARICO & PIANO (2004) conduziram um estudo a fim de verificar se a densidade de estolão pode ser usada como um critério de seleção indireta para melhorar o desenvolvimento de raiz do trevo branco tipo ladino e os resultados mostraram uma relação positiva entre densidade de estolão e desenvolvimento de raízes. Entretanto, os autores afirmaram não existir nenhuma evidência de uma relação positiva entre desenvolvimento de raiz e tolerância à seca, visto que o peso seco de raízes aumentou sob estresse, particularmente em solo de horizonte profundo. Os autores acrescentaram ainda que esse aumento do peso seco de raízes sob estresse foi devido ao crescimento das raízes já existentes, ao invés da produção de novas raízes, pois a seca causou uma redução na porcentagem de nós enraizados.

Este trabalho teve como objetivo determinar características morfofisiológicas relacionadas à resposta ao déficit hídrico em sete acessos de trevo branco pertencentes à coleção nuclear do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), juntamente com um cultivar conhecido (Ladino Regal), com características morfológicas contrastantes.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado na casa-de-vegetação do Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, utilizando-se sete genótipos pertencentes à coleção nuclear de trevo branco proveniente do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), representando seis países (Tabela 1), os quais apresentaram características contrastantes em relação ao comprimento de estolão, tamanho de folíolo (área foliar) e a produção de matéria seca em um estudo realizado anteriormente (BORTOLINI et al., 2006).

Tabela 1. Identificação dos acessos da coleção nuclear de trevo branco

Nº do acesso	Identificação no USDA* (PI)	País em que foi obtido	Estado de melhoramento
1	195534	Itália	Incerto
2	214207	Israel	Desconhecido
10	419325	Grécia	Selvagem
31	282381	Estados Unidos	Cultivar
35	269981	Paquistão	Incerto
67	239977	Portugal	Incerto
80	Ladino Regal	Estados Unidos	Cultivar

\*USDA = Departamento de Agricultura dos Estados Unidos.

Foi utilizado solo proveniente da Estação Experimental Agronômica (EEA), pertencente à unidade de mapeamento São Jerônimo e classificado como Argissolo Vermelho Distrófico típico – Pvd (STRECK et al., 2002). O solo foi seco ao ar, destorroado, peneirado, corrigido, incubado e colocado em vasos de 10 kg. Enquanto o solo permanecia incubando, foram semeadas 25 sementes de cada acesso diretamente em bandejas olerícolas, as quais depois de 30 dias foram transplantadas para copos plásticos (500 mL). O experimento foi conduzido de abril a agosto de 2005, com os tratamentos de disponibilidade hídrica de: 40 e 90% da umidade de capacidade de campo. Cada unidade experimental foi formada por um vaso com uma planta, no qual foi colocado um saco plástico, 10 kg de solo seco e água para obter a umidade de capacidade de campo de 40 e 90% para os respectivos tratamentos. Cada planta foi inoculada com 1 mL de uma solução

de *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* (SEMIA 222 e SEMIA 2082 segundo recomendação do Laboratório de Fixação Biológica do Nitrogênio/ Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária/LFBN/FEPAGRO/Porto Alegre) em solução aquosa (concentração de  $10^9$  células.mL<sup>-1</sup>). Cada vaso foi pesado e regado diariamente, sendo as avaliações morfofisiológicas realizadas aos 130 e aos 196 dias após a semeadura. Na primeira avaliação (não-destrutiva), foram medidos os seguintes parâmetros: estatura (EST), comprimento de estolão primário (CES1), utilizando uma régua graduada em centímetros; hábito de crescimento (HAB), medido visualmente, sendo atribuídas notas 1, 2 e 3 para plantas prostradas, decumbentes e eretas, respectivamente; número de folhas vivas (NFV) e senescentes (NFS), por contagem; área foliar de 3 folhas (AF), em um planímetro ótico modelo LICOR 3100; e produção de matéria seca da parte aérea (MSPA = folha + estolão), através do corte das plantas com auxílio de tesouras, e secagem em estufa a 60°C até peso constante. Por outro lado, na segunda avaliação (destrutiva), foram também avaliados: comprimento de estolão secundário (CES2) e terciário (CES3), utilizando uma régua graduada em centímetros; número de ramificações por estolão (rami/est), número de inflorescências (NI), por contagem; produção de matéria seca de folha (MSF), de estolão (MSE) e de raiz (MSR), através do corte das plantas com auxílio de tesouras, e secagem em estufa a 60°C até peso constante; taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (g), transpiração (Tr), através de um medidor de fotossíntese modelo LICOR 6400, e eficiência do uso da água (EUA), através da razão entre fotossíntese e transpiração. O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado, com quatro repetições. A análise estatística foi realizada com auxílio do programa SAS 8.2 (SAS INSTITUTE, 2001), constituindo de uma análise de variância (one way), e da comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Posteriormente, foi realizada a



análise de correlação simples para cada tratamento dentro de cada avaliação, utilizando-se quatro repetições por acesso para cada uma das 18 variáveis medidas. Finalmente, foram gerados índices de tolerância, para AF e MSPA para os dois cortes, dividindo-se os valores obtidos a 40% por aqueles obtidos no 90%).

### **Resultados e Discussão**

A análise dos resultados indicou que, na primeira avaliação, todas as variáveis medidas foram afetadas pela disponibilidade de água, embora os acessos avaliados não tenham diferido significativamente quanto à produção de forragem dentro de cada disponibilidade hídrica. Na segunda avaliação, houve interação genótipo x níveis de água para estatura (EST), número de folhas vivas (NFV), comprimento de estolão primário (CES1), área foliar (AF), matéria seca de folha (MSF), matéria seca de estolão (MSE), número de ramificações por estolão (ramif/est), condutância estomática (g), transpiração (Tr) e número de inflorescências (NI). Contudo não houve diferença significativa entre os acessos na menor disponibilidade hídrica (40% da CC) para nenhuma das variáveis. Nessa última avaliação, os acessos diferiram significativamente quanto à produção de MS a 90% da CC, sendo os acessos 1, 31 e 35 os que apresentaram maior MSPA. Os acessos 1, 35 e 67 foram os que reduziram significativamente o CES1 sob estresse (Figura 1). Esses resultados concordam com LUCERO et al. (1999), os quais afirmaram que ambos os rendimentos de matéria seca e estolão diminuíram com o aumento do déficit hídrico no solo.

Dentre os acessos com maior produção de forragem, o acesso 1 caracterizou-se por uma maior AF e MSF, enquanto que o 35, pelos maiores CES, MSE, rami/est e NFV, evidenciando a importância do estolão e da AF na ausência de déficit hídrico. O acesso 10,

juntamente com o 80, foram os que apresentaram menor MSPA, sendo que o primeiro também apresentou menor AF e EST e maior rami/est. Com exceção dos acessos 6 e 10, todos os demais reduziram significativamente a AF sob estresse, apresentando valores até cinco vezes menores do que no 90% da CC (dados não mostrados).

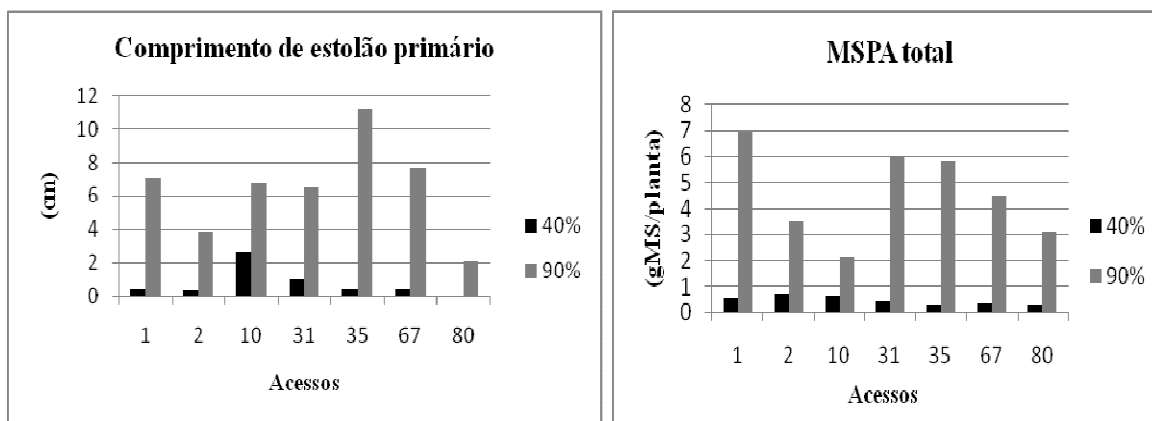


Figura 1. Comprimento de estolão primário (no segundo corte) e produção de matéria seca de parte aérea total (soma dos dois cortes) de sete acessos de trevo branco, submetidos a 40 e 90% da umidade de capacidade de campo do solo.

Observando-se a Figura 2, nota-se que a taxa fotossintética foi reduzida praticamente à metade no tratamento a 40% da CC para a maioria dos acessos, havendo diferença significativa entre os tratamentos hídricos. Segundo LAWLOR (1995), as possíveis razões para esse decréscimo na taxa fotossintética são: a limitada difusão de  $\text{CO}_2$  para os espaços intercelulares da folha, como consequência da redução estomática, e o metabolismo prejudicado devido à inibição direta de processos bioquímicos pela perda de água da célula. Os acessos 35 e 67 apresentaram maiores taxas fotossintéticas e menores condutâncias e transpiração quando submetidos à alta disponibilidade hídrica, utilizando a água de forma mais eficiente a 90%. Entretanto, sob o estresse, o acesso 67 foi o que apresentou menor taxa fotossintética, reduzindo também a condutância e transpiração. O acesso 31, que apresentou uma das maiores taxas fotossintéticas, juntamente com menores

condutância e transpiração a 40%, foi o que teve maior eficiência do uso da água durante o estresse hídrico.

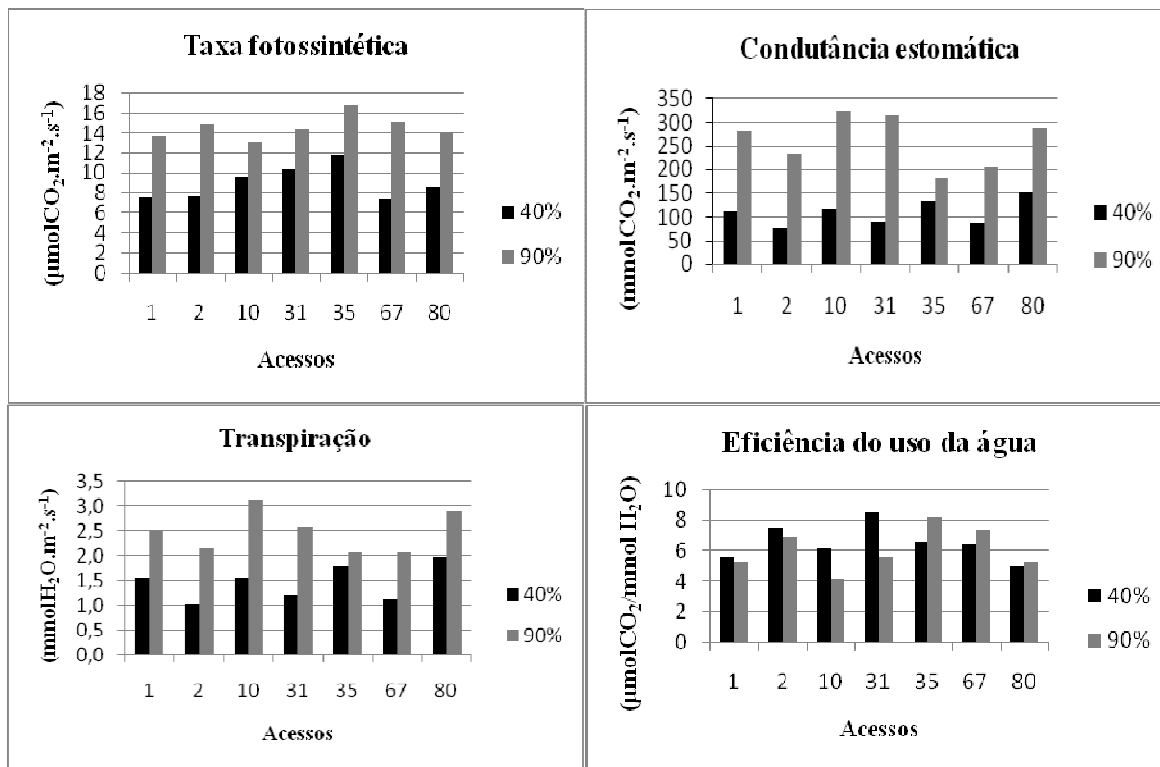


Figura 2. Taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência do uso da água de sete acessos de trevo branco, submetidos a 40 e 90% da umidade de capacidade de campo do solo.

Nas duas avaliações, em ambas as disponibilidades hídricas, verificaram-se correlações positivas e altamente significativas ( $P < 0,01$ ) entre CES e NFV ( $r \geq 0,51$ ), assim como entre AF e EST ( $r \geq 0,62$ ). Observando-se o Quadro 1, verifica-se que, na primeira avaliação, no tratamento a 40% da CC, a MSPA apresentou correlação positiva e altamente significativa com a AF ( $r = 0,50$ ) e o NFV ( $r = 0,61$ ), enquanto que no tratamento a 90% da CC a MSPA não se correlacionou significativamente com a AF, mas sim ao CES1 ( $r = 0,57$ ), juntamente com o NFV ( $r = 0,61$ ) e a EST ( $r = 0,47$ ).

Quadro 1. Correlações entre as variáveis na primeira avaliação, nos tratamentos 40 e 90% da CC

<b>40%</b>	EST	NFV	NFS	CES	AF	MSPA	MSPAtotal
EST		-0,19	-0,21	-0,04	0,62**	0,25	0,38*
NFV			0,39*	0,51**	-0,13	0,61**	0,50**
NFS				0,11	-0,21	0,20	-0,13
CES					-0,16	0,28	0,31
AF						0,50**	0,37*
MSPA							0,47**
MSPAtotal							

<b>90%</b>	EST	NFV	CES	AF	MSPA	MSPAtotal
EST		-0,09	-0,07	0,85**	0,47**	0,50**
NFV			0,65**	-0,21	0,61**	0,28
CES				-0,13	0,57**	0,42*
AF					0,33	0,39*
MSPA						0,55**
MSPAtotal						

\*\*Significativo a 1% de probabilidade pela estatística t ( $P < 0,01$ ).

\* Significativo a 5% de probabilidade pela estatística t ( $P < 0,05$ ).

Observando-se o Quadro 2, na segunda avaliação, as variáveis que apresentaram correlação positiva e altamente significativa com a MSPA, no tratamento a 40% da CC, foram o CES1 ( $r = 0,79$ ) e o NFV ( $r = 0,87$ ) e, no 90% da CC, apenas o CES1 ( $r = 0,71$ ). Esse fato pode indicar que no primeiro corte, quando as plantas estavam menores, a MSPA foi correlacionada com a AF, enquanto que no segundo corte, como as plantas já estavam maiores, o CES1 passou a ter importância na formação da MSPA. Verifica-se também alta correlação entre MSPA e fotossíntese, indicando que quanto maior a MSPA, maior era a taxa fotossintética dos acessos. O número de ramificações por estolão está correlacionado com os CES1, CES2 e CES3, com o NFV e negativamente correlacionado com a AF, indicando que quanto maior o CES, maior o NFV e menor a AF dessa planta. O número de inflorescências está correlacionado com a MSF e a MSPA, indicando que quanto maior a MSF e MSPA, mais inflorescência as plantas apresentavam. Houve correlação negativa entre tamanho de folha e taxa de transpiração, embora não tenha sido alta e significativa, como relatado anteriormente por SINGH et al. (2000a).

Quadro 2. Correlações entre as variáveis na segunda avaliação, nos tratamentos 40 e 90% da CC

40%	EST	NFV	NFS	CES1	AF	MSPA	MSF	MSE	MSR	Foto	Cond (g)	Tr
EST		0,02	-0,11	0,01	0,92**	0,36	0,67**	-0,11	0,18	0,32	-0,01	-0,08
NFV			0,70**	0,77**	0,08	0,87**	0,65**	0,89**	0,09	0,43*	0,15	0,13
NFS				0,74**	-0,06	0,56**	0,30	0,71**	0,09	0,30	0,23	0,24
CES1					0,06	0,79**	0,52*	0,89**	0,15	0,11	0,09	0,09
AF						0,41	0,70**	-0,05	0,11	0,49*	0,06	-0,05
MSPA							0,89**	0,84**	0,33	0,89**	-0,06	0,04
MSF								0,50*	0,33	0,42	-0,06	-0,13
MSE									0,08	0,25	0,22	0,23
MSR										-0,19	-0,50*	-0,49*
Foto											0,29	0,18
Cond (g)												0,99**
Tr												

90%	EST	NFV	NFS	CES1	CES2	CES3	AF	MSPA	MSF	MSE	MSR	Ra/E	Foto	Cond (g)	Tr	NItotal
EST		-0,41	-0,08	0,02	-0,34	-0,22	0,70**	0,39	0,55**	0,11	0,06	-0,49*	-0,19	0,19	-0,07	0,19
NFV			0,32	0,61**	0,74**	0,68**	-0,47*	0,36	0,18	0,51**	0,27	0,65**	0,31	-0,33	-0,18	-0,15
NFS				0,32	-0,06	-0,03	-0,02	0,23	0,16	0,28	-0,10	-0,03	0,15	-0,54**	-0,54**	-0,10
CES1					0,38	0,25	-0,22	0,71**	0,52*	0,81**	0,07	0,44*	-0,14	-0,35	-0,36	0,21
CES2						0,93**	-0,32	0,25	0,06	0,44*	0,45*	0,86**	0,33	-0,01	0,14	-0,12
CES3							-0,22	0,16	0,04	0,28	0,37	0,62**	0,34	-0,04	0,09	-0,16
AF								0,24	0,35	0,07	0,11	-0,45*	-0,09	0,14	-0,10	-0,08
MSPA									0,94**	0,90**	0,32	0,24	0,17	-0,31	-0,41	0,48*
MSF										0,69**	0,30	0,00	0,21	-0,21	-0,40	0,60**
MSE											0,29	0,49*	0,08	-0,37	-0,35	-0,08
MSR												0,36	0,49*	0,07	-0,09	-0,08
Ra/E													0,27	0,05	0,21	-0,03
Foto														-0,05	-0,18	0,22
Cond(g)															0,85**	0,03
Tr																-0,06
NItotal																

\*\*Significativo a 1% de probabilidade pela estatística t (P < 0,01).

\* Significativo a 5% de probabilidade pela estatística t (P < 0,05).

A MSPA total (soma dos 2 cortes) foi correlacionada com NFV no tratamento 40%, enquanto que no 90% foi correlacionada com o CES. Isso indica que sob déficit hídrico, o NFV foi importante para a formação da MSPA, apresentando menor importância sob alta disponibilidade de água, onde o CES foi o maior responsável pela produção de MSPA.

Os índices de tolerância são usados para tornar possível a comparação de tolerância entre diferentes estações e/ou entre diferentes espécies por igualar as grandezas. Observando-se a Tabela 2, pode-se notar que os índices de AF diferiram significativamente enquanto que os de MSPA, tanto para o primeiro como para o segundo corte, não apresentaram diferença significativa entre os acessos. De acordo com os resultados de AF, o acesso mais tolerante foi o acesso 10, o qual apresentou o maior índice (1,23). No entanto, verificando os valores de AF desse acesso percebe-se que esse é o acesso com menor AF tanto no tratamento a 40, quanto no 90% da CC, apresentando menor produção de forragem. Em contrapartida, os acessos 1, 2 e 31 apresentam índices mais baixos, mas maior AF em ambos os tratamentos hídricos, produzindo maior quantidade de forragem, que seria mais interessante nesse caso.

Tabela 2. Médias dos acessos para ambas as disponibilidades hídricas e índices de tolerância para AF e MSPA na primeira avaliação e MSPA na segunda avaliação e MSPA total (soma dos dois cortes)

Ac	AF (cm <sup>2</sup> )		Índice	MSPA c1		Índice	MSPA c2		Índice	MSPA tot		Índice
	40%	90%		40%	90%		40%	90%		40%	90%	
1	7,33	18,88	0,39 B	0,09	0,35	0,27 A	0,37	5,48	0,07 A	<b>0,46</b>	<b>5,83</b>	<b>0,08 A</b>
2	8,95	16,88	0,53 B	0,13	0,26	0,50 A	0,40	2,25	0,18 A	0,53	2,51	0,21 A
10	<b>4,69</b>	<b>3,80</b>	<b>1,23 A</b>	0,12	0,19	0,63 A	0,43	1,28	0,33 A	<b>0,55</b>	<b>1,46</b>	<b>0,37 A</b>
31	8,87	16,17	0,55 B	0,08	0,39	0,21 A	0,24	4,93	0,05 A	0,32	5,31	0,06 A
35	4,21	8,15	0,52 B	0,07	0,45	0,16 A	0,15	4,63	0,03 A	0,22	5,07	0,04 A
67	7,05	14,20	0,50 B	0,10	0,42	0,24 A	0,13	3,57	0,04 A	0,24	3,99	0,06 A
80	7,39	12,93	0,57 B	0,08	0,29	0,26 A	0,14	2,26	0,06 A	0,22	2,55	0,09 A

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Quanto à produção de MSPA, os índices não diferiram significativamente em nenhum dos dois cortes. Levando-se em conta essa análise, sem verificar os valores absolutos de produção, a seleção de materiais mais tolerantes pode resultar em plantas com baixa produção de MS, por exemplo, como observado com os índices para MSPA total. O acesso 10 apresenta maior índice (0,37), sendo o acesso mais tolerante, mas apresenta MSPA total menor do que os demais no tratamento 90% e igual produção ao 40% da CC. Além disso, o acesso 1, que apresenta maior MSPA total possui um dos menores índices (0,08), mas sua produção é muito maior a 90%, sendo mais desejável nesse caso.

Portanto, de acordo com esses resultados, a utilização de índices de tolerância não é uma boa ferramenta para a seleção, uma vez que se procuram acessos com boa produção de forragem sob a condição de estresse, evitando-se acessos altamente tolerantes, mas que não produzam forragem de maneira satisfatória.

### **Conclusões**

O déficit hídrico teve um significativo efeito sobre a maioria das variáveis, como EST, AF, NFV, CES, MSPA, taxa fotossintética, condutância e EUA.

O acesso 1 foi o mais tolerante ao estresse hídrico, apresentando maior produção de MS sob alta disponibilidade hídrica, e uma das maiores produções de MS sob déficit hídrico.

As características NFV e taxa fotossintética poderiam ser usadas para a seleção precoce de plantas de trevo branco para tolerância ao estresse hídrico.

### **Agradecimentos**

Ao CNPq pela bolsa de estudos concedida, ao Departamento de Agricultura dos Estados Unidos pelo fornecimento das sementes e aos bolsistas de Iniciação Científica e colegas mestrando pela ajuda nas avaliações, pesagens e tabulação de dados, em especial ao Armando Martins dos Santos pelo grande auxílio com a análise estatística.



## Referências

- ANNICCHIARICO, P.; PIANO, E. Indirect Selection for Root Development of White Clover and Implications for Drought Tolerance. **J. Agronomy & Crop Science**, v.190, p.28-34, 2004.
- BORTOLINI, F. et al. Caracterizações morfológica e agronômica e divergência genética em germoplasma de trevo branco. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1601-1610, 2006.
- GARCÍA, J. A. et al. Riego y producción de semillas de trébol blanco. In: JORNADA DE TREBOL BLANCO, 1., 2000, Estanzuela. [Anais...] Estanzuela: INIA, 2000. p.13-18. (Serie Actividades de Difusión, 241).
- IANNUCCI, A. et al. Water deficit effects on osmotic adjustment and solute accumulation in leaves of annual clovers. **European Journal of Agronomy**, v.16, p.111-122, 2002.
- LAWLOR, D. W. The effects of water deficit on photosynthesis. In: SMIRNOFF, N. (ed). **Environment and Plant Metabolism: flexibility and acclimation**. Oxford: BIOS Scientific Publishers Ltd, 1995.
- LUCERO, D. W. et al. Effects of water deficit and plant interaction on morphological growth parameters and yield of white clover (*Trifolium repens* L.) and ryegrass (*Lolium perenne* L.) mixtures. **European Journal of Agronomy**, v.11, p.167-177, 1999.
- McMANUS, M. T. et al. Pinitol accumulation in mature leaves of white clover in response to a water deficit. **Environmental and Experimental Botany**, v.43, p.11-18, 2000.
- PAIM, N. R.; RIBOLDI, J. Duas novas cultivares de trevo branco comparadas com outras disponíveis no Rio Grande do Sul, em associação com gramíneas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, n.1, p.43-53, 1994.
- PIANO, E.; ANNICCHIARICO, P. Persistence of ladino white clover ecotypes and relationship with other agronomic traits. **Grass Forage Sci.**, v.50, p.195-198, 1995.
- SANDERSON, M. A. et al. Growth and complexity of white clover stolons in response to biotic and abiotic stress. **Crop Science**, Madison, v.43, p.2197-2205, 2003.
- SAS INSTITUTE. SAS: STAT user's guide: Statistics. NC State Univ. Press. Cary, NC. [8.02]. 2001. Cary, NC, SAS Institute.
- SINGH, D.K.; SALE, P.W.G. Defoliation frequency and the response by white clover to increasing phosphorus supply. I. Leaf dry matter yield and plant morphology responses. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.48, p.111-118, 1997a.
- SINGH, D.K.; SALE, P.W.G. Phosphorus supply and the growth of frequently defoliated white clover (*Trifolium repens* L.) in dry soil. **Plant and Soil**, v.205, p.155-162, 1998.
- SINGH, D.K. et al. Phosphorus concentrations in the leaves of defoliated white clover affect abscisic acid formation and transpiration in drying soil. **New Phytologist**, v.146, p.249-259, 2000a.
- STRECK, E.V. et al. **Solos do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: EMATER/RS; UFRGS, 128 p, 2002.
- WILLIAMS, W.M. White clover taxonomy and bioestematics. In: Baker, M.J., Williams, W.M. (ed) White clover. CAB International, Wallingford: 323-342, 1987.

## **CAPÍTULO III**

### **AVALIAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS ASSOCIADAS À TOLERÂNCIA À SECA EM DIFERENTES GENÓTIPOS DA COLEÇÃO NUCLEAR DE TREVO BRANCO (*Trifolium repens* L.)**

## **Avaliação de características morfofisiológicas associadas à tolerância à seca em diferentes genótipos da coleção nuclear de trevo branco (*Trifolium repens* L.)<sup>7</sup>**

Fernanda Bortolini<sup>8</sup>, Miguel Dall'Agnol<sup>9</sup>, Armando Martins dos Santos<sup>10</sup>,  
Carlos A. Bissani<sup>11</sup>, Luís Mauro Gonçalves Rosa<sup>4</sup>

**RESUMO** – O objetivo deste trabalho foi determinar características morfofisiológicas relacionadas à resposta ao déficit hídrico de trevo branco. O experimento foi realizado em casa-de-vegetação utilizando-se 18 genótipos da coleção nuclear de trevo branco, avaliando o efeito da disponibilidade hídrica (90 e 50% da umidade capacidade de campo do solo) sobre os genótipos, com quatro repetições, totalizando 144 vasos. Foram realizadas duas avaliações, aos 108 e aos 152 dias após a semeadura, com diversos parâmetros sendo avaliados. Os resultados indicaram que a grande maioria das variáveis analisadas foi afetada pela disponibilidade de água, como área foliar (AF); número de folhas vivas (NFV); produção de matéria seca de folha (MSF), estolão (MSE), raiz (MSR) e parte aérea (MSPA); taxa fotossintética (A), condutância (g) e eficiência do uso da água (EUA), havendo interação genótipo x nível de água para 12 das 23 variáveis medidas na primeira avaliação, e 19 das 32 variáveis analisadas na segunda. Verificou-se também que a MSPA sob déficit hídrico apresentou-se positiva e altamente correlacionada ( $r > 0,77$ ), na primeira avaliação, com MSF e AF, enquanto que na segunda correlacionou-se com MSE, AF, MSF, MSR, volume de raiz e NFV ( $r > 0,79$ ). Os acessos que se destacaram sob déficit hídrico foram o 75 e o 74, os quais triplicaram e dobraram, respectivamente, a eficiência do uso da água, apresentando maiores comprimentos de entrenós na falta de água e, conseqüentemente, maiores produções de MSPA. No entanto, o acesso 74 foi superior ao 75, apresentando quase o dobro de MSPA no nível 90% e praticamente igual MSPA no nível 50%. O NFV e a largura da planta são características morfológicas que poderiam ser utilizadas para a seleção precoce de plantas de trevo branco para tolerância ao estresse hídrico.

**Palavras-chave:** déficit hídrico, estresse hídrico, leguminosas forrageiras, melhoramento vegetal

<sup>7</sup> Artigo redigido nas normas da Revista Brasileira de Zootecnia.

<sup>8</sup> Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia/UFRGS. E-mail: [ferbortolini@gmail.com](mailto:ferbortolini@gmail.com)

<sup>9</sup> Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia/UFRGS. Caixa Postal 15100, CEP: 91501-970, Porto Alegre, RS. E-mail: [migueld@ufrgs.br](mailto:migueld@ufrgs.br)

<sup>10</sup> Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia/UFRGS.

<sup>11</sup> Departamento de Solos/UFRGS.

**Evaluation of morphophysiological traits associated to the drought tolerance in different genotypes of the white clover core collection (*Trifolium repens* L.)**

ABSTRACT - The objective of this work was to determine morphophysiological traits related to the response of white clover to the water deficit. The trial was carried out in greenhouse being analyzing a sample composed of 18 genotypes of the white clover core collection, evaluating the effect of water availability (90 and 50% of the soil moisture field capacity) on the white clover genotypes, with four repetitions, totaling 144 pots. Two evaluations were made, at the 108 and 152 days after the sowing, when several characteristics were measured. The results indicated that the majority of the variables was affected by the availability of water, such as foliar area (FA), number of alive leaves (NAL), production of dry matter of leaf (LDM), of stolon (SDM) and of root (RDM), dry matter of the aerial part (DMAP), photosynthesis rates, conductance and water use efficiency (WUE), showing a genotype x water content interaction for 12 of the 23 measured variables in the first evaluation, and for 19 of the 32 variables analyzed in the second evaluation. It was also verified that DMAP under water deficit was positive and highly correlated ( $r > 0,77$ ), in the first evaluation, with LDM and FA, but in the second evaluation it was correlated with SDM, FA, LDM, RDM, roots volume and NAL ( $r > 0,79$ ). Therefore, the best accesses under stress were the 75 and the 74, which triplicated and double the water use efficiency, respectively, presented larger internodes lengths in the water stress and, consequently, larger productions of DMAP. However, the access 74 was superior, showing almost the double of the DMAP at the 90% level and almost the same DMAP under 50%. The NAL and the width are morphological traits that could be used for early white clover selection for tolerance to water stress.

Keywords: forage legumes, plant breeding, water deficit, water stress

## Introdução

O trevo branco (*Trifolium repens* L.) é uma das mais importantes leguminosas forrageiras para utilização no Rio Grande do Sul, durante o inverno e primavera, tanto pelo seu alto rendimento como pela sua qualidade de forragem (Nabinger, 1980). No entanto, pode apresentar problemas de persistência, principalmente no verão, devido às altas temperaturas e à baixa disponibilidade de água no solo nesse período (Paim & Riboldi, 1994). Em função da pequena profundidade do sistema radicular de seus estolões e de um pobre controle da transpiração, o trevo branco é mais sensível ao déficit de água no solo do que as outras leguminosas perenes (Garcia et al., 2000).

Conforme Piano & Annicchiarico (1995), a persistência de ecótipos de trevo branco está possivelmente associada à densidade de estolões, à produção de matéria seca e ao comprimento de entrenó. De acordo com Sanderson et al. (2003), a persistência dessa espécie nas pastagens deve-se principalmente ao crescimento do estolão. Portanto, um manejo que mantenha um importante comprimento e massa de estolão, é fundamental para auxiliar na persistência e competitividade dessa leguminosa.

Segundo Seker et al., (2003), o decréscimo da produtividade é apenas uma das respostas ao estresse. As espécies de trevo têm diferente sensibilidade à redução de água no solo e outras características, tais como condutância foliar ou comprimento e profundidade de raiz (Iannucci et al., 2002). São, por conseqüência, características que necessitam ser estudadas para explicar o desempenho de cada espécie sob estresse hídrico. Annicchiarico & Piano (2004) conduziram um estudo a fim de verificar se a densidade de estolão pode ser usada como um critério de seleção indireta para melhorar o desenvolvimento de raiz do trevo branco tipo ladino e os resultados mostraram uma relação positiva entre densidade de estolão e desenvolvimento de raízes. Entretanto, os

autores afirmaram não existir nenhuma evidência de uma relação positiva entre desenvolvimento de raiz e tolerância à seca, visto que o peso seco de raízes aumentou sob estresse, particularmente em solo de horizonte profundo.

Este trabalho teve como objetivo determinar características morfofisiológicas relacionadas à resposta ao déficit hídrico em 18 acessos de trevo branco pertencentes à coleção nuclear do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), visando à obtenção de genótipos tolerantes e mais persistentes para serem utilizados no Rio Grande do Sul.

### **Material e Métodos**

O experimento foi realizado na casa-de-vegetação do Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul de fevereiro a maio de 2008, utilizando-se uma subamostra da coleção nuclear de trevo branco. Essa subamostra foi composta por 18 genótipos, representando 15 países (Tabela 1), os quais apresentaram características contrastantes em relação ao comprimento de estolão, tamanho de folíolo (área foliar) e a produção de matéria seca em um estudo realizado anteriormente (Bortolini et al., 2006).

Foi utilizado solo proveniente do município de André da Rocha, pertencente à unidade de mapeamento Durox e classificado como Latossolo Vermelho Distroférrico típico – LVdf (Streck et al., 2002). Os valores de algumas características deste solo são, em g/kg: argila = 600; matéria orgânica = 20; umidade gravimétrica (capacidade de campo - CC) = 230. Esse solo foi seco sobre bancadas em casa-de-vegetação, destorroado, peneirado, corrigido (adicionando 80 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ha, 50 kg de K<sub>2</sub>O/ha e 25 kg de N/ha), e incubado individualmente em sacos plásticos de 4 kg, por aproximadamente dois meses.

Enquanto o solo permanecia incubando, foram semeadas 30 sementes de cada acesso diretamente em bandejas olerícolas, as quais depois de 20 dias foram transplantadas para copos plásticos (400 mL).

Tabela 1. Identificação dos acessos pertencentes à coleção nuclear de trevo branco

Nº do acesso	Identificação no USDA* (PI)	País em que foi obtido	Estado de melhoramento
1	195534	Itália	Incerto
2	214207	Israel	Desconhecido
10	419325	Grécia	Selvagem
17	322699	Camarões	Incerto
18	324903	Polônia	Incerto
20	226996	Uruguai	Melhorado
31	282381	Estados Unidos	Cultivar
35	269981	Paquistão	Incerto
38	239983	Irã	Incerto
39	249873	Grécia	Selvagem
41	251191	Iugoslávia	Selvagem
44	556991	Estados Unidos	Melhorado
57	166371	Índia	Tipo local
67	239977	Portugal	Incerto
74	404543	Brasil	Material cultivado
75	404930	Uruguai	Material cultivado
78	517126	Marrocos	Selvagem
79	Grassland Huia	Nova Zelândia	Cultivar

USDA = Departamento de Agricultura dos Estados Unidos.

O delineamento experimental foi completamente casualizado e cada unidade experimental foi formada por um vaso com uma planta, no qual foi colocado um saco plástico, 4 kg de solo seco e água para obter a umidade de capacidade de campo de 50 e 90% para os respectivos tratamentos. Cada planta foi inoculada com 1 mL de uma solução de *Rhizobium leguminosarum* *bv. trifolii* (SEMIA 222 e SEMIA 2082 segundo recomendação do Laboratório de Fixação Biológica do Nitrogênio/ Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária/LFBN/FEPAGRO/Porto Alegre) em solução aquosa (concentração de  $10^9$  células.mL<sup>-1</sup>). Cada vaso foi pesado e regado diariamente. As variáveis estudadas avaliaram o efeito da disponibilidade hídrica sobre os genótipos de trevo branco, pelos tratamentos 90 e 50% da umidade de capacidade de campo (CC) do solo, em quatro repetições, totalizando 144 vasos. Foram realizadas duas avaliações, aos 108 e aos 152 dias

após a semeadura. Na primeira avaliação (não-destrutiva), foram medidos os seguintes parâmetros: estatura (EST), largura da planta (LAR), comprimento do maior pecíolo (CP), comprimento do folíolo central de uma folha de tamanho representativo da planta (CF), largura do folíolo central (LF), comprimento médio de estolões primários (CES), comprimento médio de entrenó (CEN), espessura do entrenó medido (EEN), utilizando uma régua graduada em centímetros; hábito de crescimento (HAB), medido visualmente, sendo atribuídas notas 1, 2 e 3 para plantas prostradas, decumbentes e eretas, respectivamente; número de folhas vivas (NFV) e senescentes (NFS), número de estolões primários (NES1) e secundários (NES2), número de nós do maior estolão (NN), número de inflorescências (NI), por contagem; área foliar de uma folha (AF1folha), multiplicando o comprimento pela largura do folíolo central para se obter a AF de um folíolo e após multiplicando por três; área foliar total (AF), em um planímetro ótico modelo LICOR 3100; produção de matéria seca de folhas vivas (MSF) e de folhas senescentes (MSFS), de inflorescência (MSI), quando presentes, através do corte das plantas com auxílio de tesouras, e secagem em estufa a 60°C até peso constante; condutância estomática (g), transpiração (Tr), através de um porômetro modelo LICOR 1600 na primeira avaliação e um medidor de fotossíntese modelo LICOR 6400 na segunda avaliação, utilizando-se uma folha por planta; e, pelo somatório, o número total de estolões ( $NES_{total} = NES1 + NES2 + NES3 + NES4$ ) e a produção de matéria seca da parte aérea ( $MSPA = MSF + MSE + MSI$ ). Por outro lado, na segunda avaliação (destrutiva), foram também avaliados: espessura do maior pecíolo (EP), utilizando uma régua graduada em centímetros; número de estolões terciários (NES3) e quaternários (NES4), por contagem; volume de raiz (VR), através de provetas graduadas de 10 e 50 mL; produção de matéria seca de raiz (MSR), através do corte das plantas com auxílio de tesouras, e secagem em



estufa a 60°C até peso constante; taxa fotossintética líquida (A), através de um medidor de fotossíntese modelo LICOR 6400, utilizando-se uma folha por planta; eficiência do uso da água (EUA), através da razão entre fotossíntese e transpiração, além da produção de matéria seca total ( $MS_{total} = MSPA + MSR$ ) e produção de matéria seca da parte aérea total ( $MSPA_{total} = MSPA_{corte1} + MSPA_{corte2}$ ), pela soma dos pesos das respectivas variáveis. O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado, com quatro repetições. A análise estatística foi realizada com auxílio do programa SAS 8.2 (SAS Institute, 2001), constituindo de uma análise de variância (ANOVA) fatorial, e da comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Posteriormente, foi realizada a análise de correlação simples para cada tratamento dentro de cada avaliação, utilizando-se quatro repetições por acesso para 23 variáveis medidas através do pacote estatístico SANEST (Alves et al., 1993). Finalmente, foram gerados índices de tolerância, para AF e MSPA para os dois cortes, dividindo-se os valores obtidos a 50% por aqueles obtidos no 90%).

### **Resultados e Discussão**

Houve interação genótipo x nível de água para 12 das 23 variáveis medidas na primeira avaliação, sendo elas: estatura (EST), número de folhas vivas (NFV), número de folhas senescentes (NFS), produção de matéria seca de folhas vivas (MSF), largura do folíolo central (LF), área foliar de uma folha (AF1folha), área foliar total (AF), número de nós do maior estolão (NN), número de inflorescências (NI), condutância estomática (g), transpiração (Tr) e produção de matéria seca da parte aérea (MSPA). Na segunda avaliação, ocorreu interação para 19 das 32 variáveis analisadas: largura (LAR), NFV, MSF, comprimento do maior pecíolo (CP), AF1folha, AF, número de estolões secundários

(NES2), estolões terciários (NES3), e número total de estolões (NEStotal), comprimento médio de estolões primários (CES), comprimento médio de entrenó (CEN), condutância, transpiração, MSPA, volume de raiz (VR), produção de matéria seca de raiz (MSR), produção de matéria seca total (MStotal), eficiência do uso da água (EUA) e produção de matéria seca da parte aérea total dos dois cortes (MSPAtotal). Em ambas as avaliações, todas as variáveis estudadas foram afetadas pela disponibilidade de água, exceto o hábito de crescimento (HAB), a espessura de entrenós (EEN) e número de estolões quaternários (NES4), na segunda avaliação, os quais apresentaram somente efeito do acesso.

Apesar da significativa redução das características sob o déficit hídrico quando comparado à alta disponibilidade de água, não houve diferença significativa entre os acessos no tratamento 50% da CC para a maioria das variáveis, como por exemplo, produção de matéria seca de parte aérea (MSPA) onde os acessos avaliados não diferiram significativamente sob estresse hídrico, provavelmente por apresentarem-se muito pequenos. Apesar disso, o acesso 74 se destacou a 90% da CC apresentando, em média, 1,43 e 3,31 gMSPA/planta na primeira e segunda avaliações, respectivamente, apresentando uma MSPA total de 4,74 g/planta (Figura 1). A produção de MSPA no primeiro corte variou de 0,03 g/planta no tratamento 50% a 1,8 g/planta no 90% da CC, enquanto que no segundo corte a produção a 50% foi maior do que a obtida na avaliação anterior nesse mesmo nível de água, chegando a alcançar 0,86 gMSPA/planta. No nível 90%, os acessos diferiram significativamente quanto à produção de forragem, e apresentaram maiores produções, chegando a alcançar 4,46 gMSPA/planta. O acesso 10, por exemplo, apresentou a menor MSPA, para esse tratamento, na primeira avaliação (0,09 g/planta) e, na segunda avaliação, esse mesmo acesso juntamente com o acesso 1, foram os que apresentaram as menores produções de MSPA com 0,46 e 0,47 g/planta,

respectivamente.

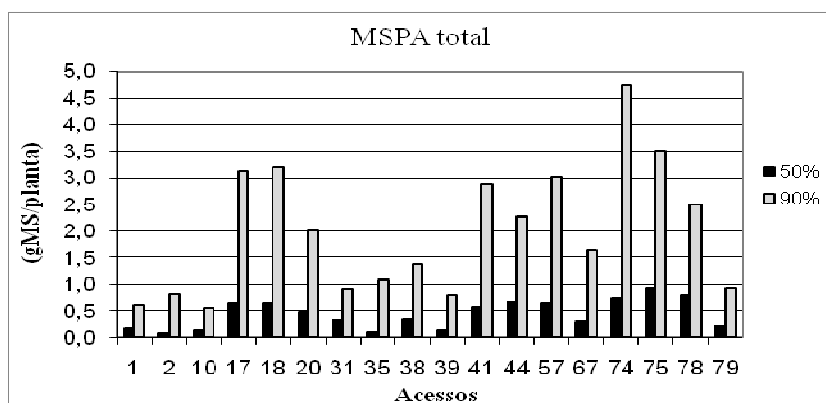


Figura 1. Produção de matéria seca de parte aérea total (soma dos dois cortes) de 18 acessos de trevo branco, submetidos a 50 e 90% da unidade de capacidade de campo do solo.

O acesso 74, a 90% da unidade de capacidade de campo, na primeira avaliação, também apresentou maior MSF, AF, EST e menor NFS, assim como maior LF tanto a 90 como a 50% da CC. No mesmo tratamento 90%, na segunda avaliação, esse mesmo acesso 74 se destacou apresentando os maiores CP, EP, CF, LF, AF, MSF, MSR, MSE e condutância estomática, todas significativamente reduzidas dentro do tratamento 50%, indicando que com a redução da disponibilidade de água no solo, reduziu a estatura (CP), o tamanho e número de folha (AF e MSF) e a quantidade e tamanho de raízes (MSR e VR). Conforme Mullet & Whitsitt (1996), algumas mudanças metabólicas induzidas pelo déficit hídrico são resultado da diminuição do crescimento das folhas jovens e, portanto do decréscimo da utilização de carbono e nitrogênio produzido nas folhas velhas. Ao contrário do acesso 74, o acesso 10 destacou-se por apresentar os menores valores para EST, NFS, LF, MSF, NN e condutância na primeira avaliação e, para LAR, CP, AF, MSF, VR, MSR na segunda, tanto a 50 quanto a 90% da CC, não diferindo significativamente entre os tratamentos hídricos nas duas avaliações, exceto para condutância, que reduziu significativamente sob estresse. Além disso, esses dois acessos apresentaram-se contrastantes sob estresse hídrico, o acesso 74 entre os mais produtivos, enquanto que o 10

entre os acessos com menor MSPA.

Quando se analisa a partição de MS para as duas disponibilidades hídricas (Figura 2), verifica-se que no tratamento 90% houve uma maior participação de folhas na MStotal, enquanto que no 50% houve uma maior participação de raiz e de estolão, ou seja, houve uma mudança nas características da planta para responder ao estresse hídrico, como por exemplo, os acessos 74, 75 e 57, os quais aumentaram, numericamente, o CEN no 50%.

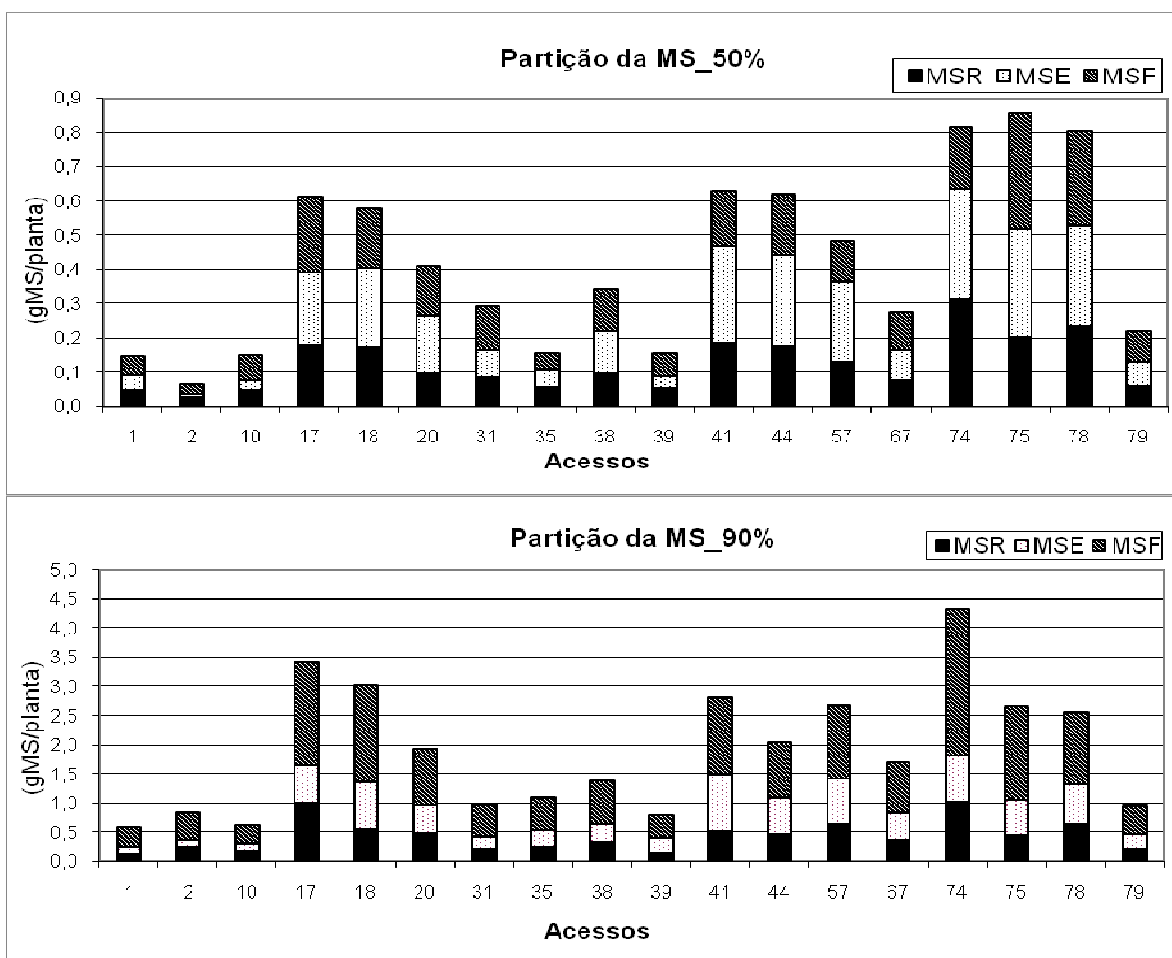


Figura 2. Partição da biomassa (MStotal) dos 18 acessos de trevo branco sob condição de estresse hídrico (50%) e sob alta disponibilidade hídrica (90%).

Confirmando relatado anteriormente (Seker et al.,2003), a plasticidade do tevo-branco resulta em mudanças no hábito da planta em resposta a diferentes estresses ambientais. Pode-se notar também a diferença de produção de MS da parte aérea total, ou seja, a soma dos dois cortes, a qual foi consideravelmente reduzida com a redução da disponibilidade de

água no solo de 50 para 90% da CC. Esses resultados vão ao encontro dos obtidos por Marshall et al. (2001), os quais verificaram redução significativa na produção de MS após cada ciclo de seca, comparando com os tratamentos mantidos na capacidade de campo. Observando-se essa figura, verifica-se que o acesso 74 foi superior ao 75, pois apresentou uma produção de MS quase duas vezes maior no 90% e, praticamente se igualou ao 75 sob estresse hídrico.

Essa pequena participação de MSF e MSE deve-se a grande redução no tamanho de folha (AF) e no comprimento de estolões observados em todos os acessos sob estresse hídrico (Figura 3).

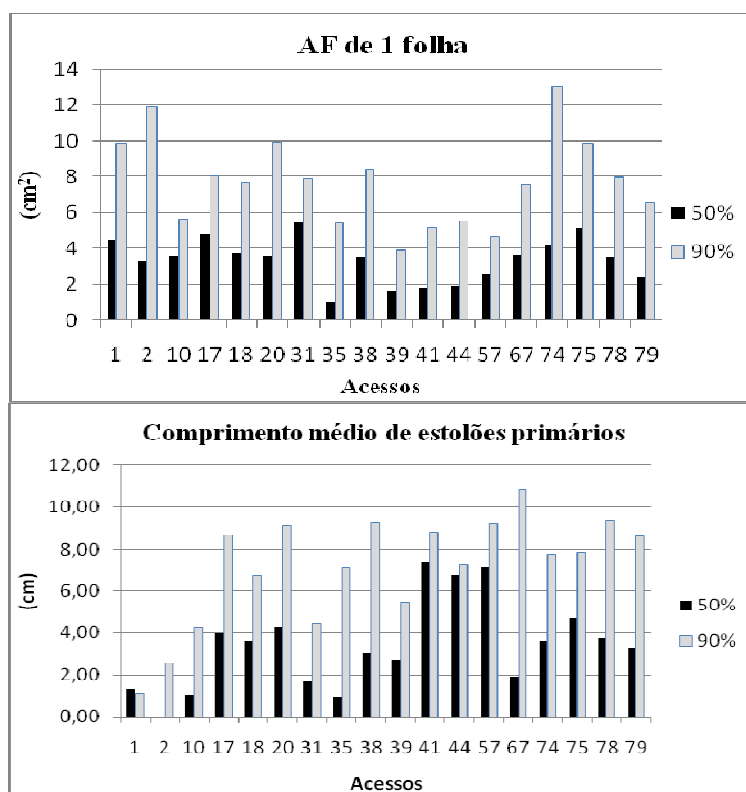


Figura 3. Área foliar de uma folha (3 folíolos) e comprimento médio de estolões primários de 18 acessos de trevo branco, submetidos a 50 e 90% da umidade de capacidade de campo do solo.

A taxa fotossintética foi significativamente afetada pela disponibilidade hídrica, mas não houve diferença significativa entre os acessos (Figura 4). A fotossíntese de todos os acessos foi significativamente menor no tratamento 50%, com exceção dos acessos 35 e

75, os quais mantiveram a taxa fotossintética na falta de água.

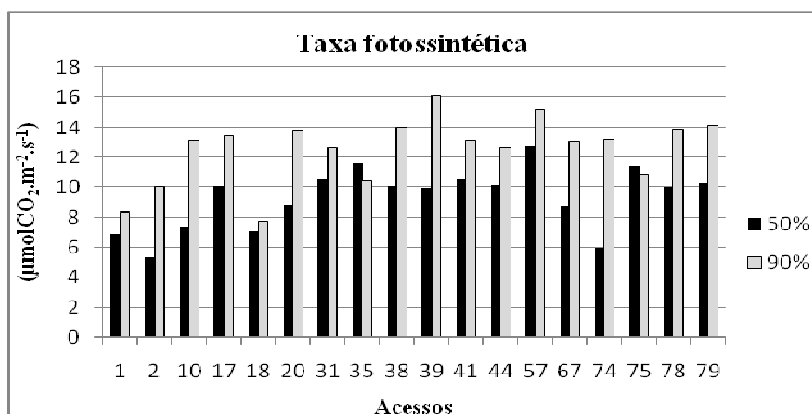


Figura 4. Taxa fotossintética de 18 acessos de trevo branco, submetidos a 50 e 90% da umidade de capacidade de campo do solo.

Conforme Wilkinson et al. (1998), a característica chave da tolerância à seca de plantas é o efetivo fechamento estomático prevenindo a perda de água pela transpiração e mantendo, assim, o potencial de água na parte aérea apesar da redução da disponibilidade de água no solo. Isso pôde ser verificado observando o comportamento do acesso 74, o qual apresentou significativamente maiores condutância e transpiração no 90% da CC (Figura 5) e, menores no 50%, mostrando que quando a disponibilidade de água não foi limitante, os estômatos permaneceram abertos, permitindo uma maior transpiração, fechando-se eficientemente no déficit hídrico e diminuindo a transpiração. Apesar da taxa fotossintética reduzir a metade, o acesso 74 obteve a maior produção de MSPA em relação aos outros acessos na falta de água. O contrário aconteceu com o acesso 10, que apresentou maior condutância e transpiração no tratamento 50%, mostrando que, apesar do déficit de água, seus estômatos permanecem abertos, perdendo mais água por transpiração e, conseqüentemente, apresentando menor eficiência no uso de água.

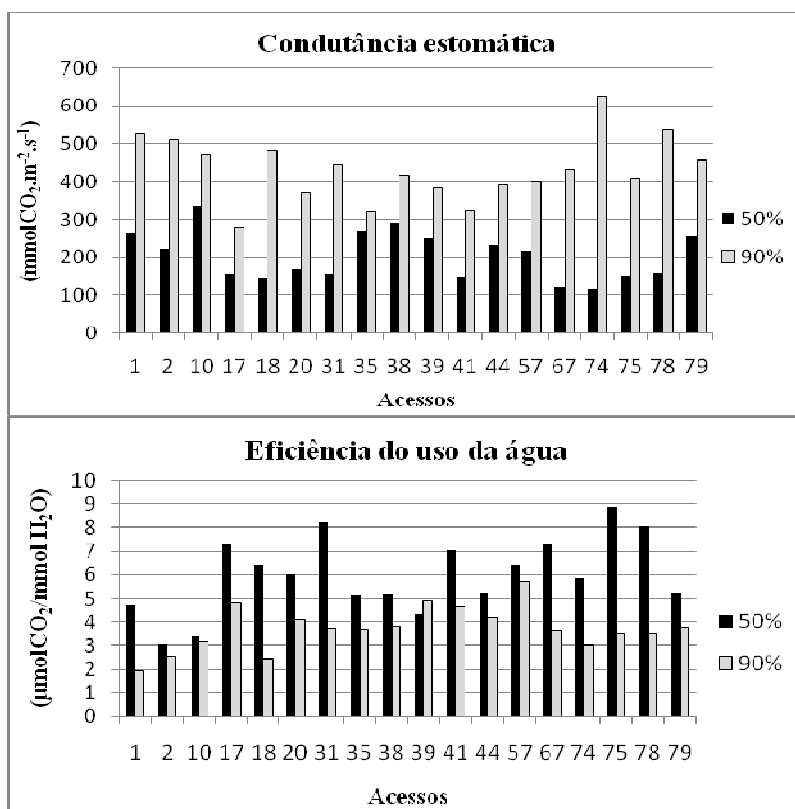


Figura 5. Condutância estomática e eficiência do uso da água de 18 acessos de trevo branco, submetidos a 50 e 90% da unidade de capacidade de campo do solo.

Quando se analisa a condutância estomática, verifica-se que essa variável foi significativamente afetada pela interação da disponibilidade de água e dos acessos nas duas avaliações, concordando com Ianucci et al. (2002), os quais afirmam que as espécies de trevo têm uma diferente sensibilidade à redução de água no solo e outras características fisiológicas e/ou morfológicas, tais como condutância foliar ou comprimento e profundidade de raiz, tendo que ser estudados para explicar o desempenho de cada espécie sob estresse hídrico. Na primeira avaliação, todos os acessos reduziram significativamente sob déficit hídrico, indicando que seus estômatos permaneceram mais fechados ao longo dos dias do que os estômatos presentes nas folhas dos acessos sob alta disponibilidade de água. Em contrapartida, na segunda avaliação, essa redução foi significativa em apenas quatro acessos, sendo eles, 18, 67, 74 e 78. Quanto à transpiração, nas duas avaliações, os acessos apresentaram praticamente o mesmo comportamento verificado para condutância,

ou seja, quanto maior a condutância (ou quanto mais abertos os estômatos), mais as plantas transpiraram. Como encontrado por Lucero et al. (2000), a transpiração diminuiu com o aumento do déficit hídrico no solo.

A eficiência do uso da água, a qual representa um dos mecanismos envolvidos na tolerância à seca por reduzir a perda de água (Thomas & Gay, 1987), apresentou-se maior quando os acessos estavam em condições de estresse. Nesse tratamento, por ter pouca água, os acessos conservaram seus estômatos mais fechados, transpirando menos e com isso utilizando a água de forma mais eficiente. O acesso 75, por exemplo, apresentou a mesma taxa fotossintética nos dois tratamentos, mas reduziu em 1/3 sua transpiração quando submetido à baixa disponibilidade hídrica e, por isso, foi três vezes mais eficiente no uso da água sob estresse, assim como os acessos 74 e 78, que dobraram suas eficiências. Além disso, esses três acessos foram, dentre os acessos estudados, os que apresentaram maiores MSPA, MStotal, AF, assim como, o 74 e 75 foram os que apresentaram maiores CEN, sob déficit, indicando serem mais tolerantes.

Em relação à análise de correlação, em ambas as avaliações foram encontradas correlações altamente significativas entre grande parte das variáveis, indicando a importância biológica desses caracteres. Na primeira avaliação (Quadro 1), em ambas as disponibilidades hídricas, as maiores correlações foram encontradas entre a área foliar, MSF e MSPA, assim como a área foliar de uma folha com o comprimento e largura do folíolo central, ambas altamente significativas. Em relação à segunda avaliação (Quadro 2), quando as plantas depois do primeiro corte apresentavam-se maiores e com maior número de estolões desenvolvidos, pode-se notar que, além da MSF, AF e NFV, a MSE, o NESTotal, o VR e a MSR apresentaram altas correlações com a MSPA, ou seja, os estolões e as raízes passaram a ter maior participação para a produção de MSPA na segunda



avaliação, visto que as plantas apresentaram-se com maior número e comprimento estolões. Esses resultados corroboram com os obtidos por Annicchiarico & Piano (2004), os quais mostraram uma relação positiva entre densidade de estolão e desenvolvimento de raízes. Por outro lado, houve correlação positiva e altamente significativa entre o CES e a produção de MSPA, assim como a produção de MStotal, resultados discordantes daqueles reportados por Caràmbula (s.d.) e Eisinger & Paim (1994), os quais verificaram um menor rendimento de MS, geralmente associado a plantas com estolões mais longos.

Em ambas as avaliações, houve alta correlação ( $r = 0,77$  a  $0,96$ ) entre AF e produção de MSPA, confirmando os resultados obtidos por Rosso & Pagano (2001), os quais afirmaram que populações de folhas grandes apresentaram maiores rendimentos de MS. Foi observada também correlação positiva e altamente significativa entre a EST e o CP tanto na primeira avaliação, como na segunda ( $r=0,71$  a  $0,90$ ), assim como da EST com a AF, apesar dos valores um pouco baixos (entre  $0,24$  e  $0,38$ ), evidenciando que plantas com maior área foliar apresentam maior altura, concordando assim com outros autores (Beinhart 1963; Viecelli, 2000; Gustine et al.,2002; Olmos et al.,2003; e Milano, 2007).

Observando-se separadamente os dois tratamentos hídricos (50% e 90%) na primeira avaliação, verifica-se que sob déficit hídrico, o NFS e a MSFS apresentam-se altamente correlacionadas com outras características, como AF, CES e NESTotal, as quais apresentam valores baixos no 90%. Da mesma forma, na segunda avaliação, o CES e o NN apresentaram altas correlações com MSE, NFV, MSPA e NESTotal no 50%, enquanto que no 90% essas correlações apresentam baixos valores. A MSPA apresentou correlação positiva e altamente significativa ( $r=0,63$  a  $0,77$ ) com a largura de planta e com o NFV ( $r=0,60$  a  $0,79$ ), em ambas as avaliações nos diferentes tratamentos hídricos.

Quadro 1. Correlações entre as variáveis na primeira avaliação, nos tratamentos 50 e 90% da CC

50%	EST	LAR	HAB	NFV	MSF	NFS	MSFS	CP	CF	LF	AF	NES1	CES	NES2	NN	NI	g	Tr	MSPA	NEStotal	AFfolha	
EST																						
LAR	0,19																					
HAB	0,12	-0,76**																				
NFV	-0,15	0,63**	-0,70**																			
MSF	0,20	0,70**	-0,54**	0,64**																		
NFS	0,08	0,67**	-0,70**	0,71**	0,66**																	
MSFS	0,31**	0,63**	-0,49**	0,47**	0,58**	0,78**																
CP	0,71**	0,36**	-0,05	-0,14	0,16	0,00	0,22															
CF	0,69**	0,22	-0,03	-0,14	0,23	0,17	0,36**	0,63**														
LF	0,59**	0,22	-0,06	-0,12	0,16	0,14	0,33**	0,60**	0,80**													
AF	0,24*	0,77**	-0,60**	0,79**	0,80**	0,67**	0,63**	0,25*	0,29*	0,26*												
NES1	-0,13	0,56**	-0,64**	0,63**	0,56**	0,63**	0,47**	-0,15	-0,03	-0,05	0,53**											
CES	0,05	0,78**	-0,77**	0,72**	0,62**	0,75**	0,66**	0,06	0,06	0,03	0,70**	0,63**										
NES2	0,01	0,43**	-0,49**	0,13	0,39**	0,50**	0,47**	0,07	0,02	0,06	0,60**	0,17	0,54**									
NN	-0,06	0,43**	-0,54**	0,72**	0,38**	0,61**	0,48**	-0,12	0,02	-0,05	0,53**	0,59**	0,67**	0,49**								
NI	0,00	0,18	-0,21	0,16	0,02	0,04	0,06	-0,06	-0,03	0,06	0,12	0,12	0,15	0,10	0,27*							
g	-0,12	0,09	-0,09	0,07	0,00	0,07	0,19	-0,09	0,00	0,02	0,17	-0,08	0,11	0,21	0,06	0,21						
Tr	0,00	-0,02	0,04	0,05	-0,08	0,04	0,15	-0,07	0,13	0,14	0,04	-0,19	-0,07	0,09	-0,02	0,17	0,86**					
MSPA	0,19	0,66**	-0,51**	0,60**	0,98**	0,64**	0,56**	0,17	0,24*	0,14	0,77**	0,54**	0,60**	0,37**	0,33**	-0,14	-0,03	-0,11				
NEStotal	-0,08	0,66**	-0,75**	0,81**	0,63**	0,75**	0,61**	-0,06	-0,01	0,01	0,74**	0,80**	0,77**	0,73**	0,71**	0,15	0,07	-0,07	0,60**			
AFfolha	0,68**	0,23	-0,03	-0,14	0,19	0,15	0,35**	0,65**	0,93**	0,95**	0,28*	-0,06	0,04	0,04	-0,02	0,00	0,01	0,14	0,19	-0,02		

90%	EST	LAR	HAB	NFV	MSF	NFS	MSFS	CP	CF	LF	AF	NES1	CES	NES2	NN	NI	g	Tr	MSPA	NEStotal	AFfolha	
EST																						
LAR	0,46**																					
HAB	0,15	-0,49**																				
NFV	-0,04	0,55**	-0,51**																			
MSF	0,49**	0,77**	-0,41**	0,69**																		
NFS	-0,08	0,15	-0,25*	0,36**	0,13																	
MSFS	0,29*	0,47**	-0,28*	0,29*	0,46**	0,63**																
CP	0,90**	0,47**	0,18	-0,09	0,41**	-0,09	0,25*															
CF	0,77**	0,48**	-0,05	0,01	0,50**	-0,05	0,35**	0,76**														
LF	0,75**	0,46**	0,04	-0,03	0,47**	-0,06	0,29*	0,77**	0,88**													
AF	0,38**	0,77**	-0,46**	0,79**	0,96**	0,23	0,44**	0,32**	0,41**	0,38**												
NES1	-0,12	0,43**	-0,49**	0,84**	0,58**	0,36**	0,23*	-0,20	-0,08	-0,12	0,66**											
CES	0,13	0,75**	-0,63**	0,59**	0,67**	0,07	0,33**	0,09	0,20	0,14	0,66**	0,44**										
NES2	0,07	0,54**	-0,47**	0,71**	0,58**	0,36**	0,4**	0,02	0,10	0,08	0,63**	0,53**	0,50**									
NN	-0,04	0,61**	-0,64**	0,74**	0,63**	0,36**	0,39**	-0,10	0,00	-0,03	0,68**	0,69**	0,76**	0,55**								
NI	0,20	0,30**	-0,17	0,29*	0,23	0,02	0,01	0,14	0,08	-0,05	0,27*	0,30**	0,17	0,36**	0,17							
g	0,31**	0,06	0,20	-0,02	0,17	-0,03	0,14	0,29*	0,42**	0,41**	0,09	-0,06	-0,03	-0,09	-0,20	0,05						
Tr	0,16	-0,03	0,14	-0,06	0,07	-0,04	0,09	0,15	0,31**	0,29*	0,01	-0,12	0,03	-0,14	-0,10	-0,08	0,83**					
MSPA	0,48**	0,77**	-0,40**	0,69**	1,00**	0,12	0,45**	0,40**	0,49**	0,46**	0,96**	0,57**	0,67**	0,58**	0,63**	0,22	0,18	0,08				
NES total	-0,04	0,55**	-0,55**	0,89**	0,66**	0,41**	0,35**	-0,11	0,00	-0,03	0,74**	0,90**	0,53**	0,85**	0,72**	0,38**	-0,08	-0,14	0,66**			
AF folha	0,78**	0,46**	0,01	-0,04	0,51**	-0,09	0,32**	0,79**	0,96**	0,96**	0,40	-0,12	0,16	0,07	-0,02	0,00	0,43**	0,33**	0,50**	-0,04		

\*\* = Significativo a 1% de probabilidade pela estatística t (P < 0,01), \* = Significativo a 5% de probabilidade pela estatística t (P < 0,05).

Quadro 2. Correlações entre as variáveis na segunda avaliação, nos tratamentos 50 e 90% da CC

50%	EST	LAR	HAB	CP	EP	CES	NN	MSE	NFV	AF	MSF	NFS	MSFS	VR	MSR	A	g	Tr	EUA	MSPA	NEStotal	MStotal	
EST																							
LAR	0,40**																						
HAB	0,56**	-0,18																					
CP	0,76**	0,58**	0,50**																				
EP	0,39**	0,31**	0,28*	0,49**																			
CES	-0,02	0,57**	-0,56**	-0,06	-0,04																		
NN	0,06	0,54**	0,63**	-0,09	-0,17	0,74**																	
MSE	0,14	0,64**	-0,43**	0,03	0,16	0,66**	0,65**																
NFV	-0,12	0,50**	-0,56**	-0,20	-0,05	0,60**	0,69**	0,80**															
AF	0,35**	0,64**	-0,19	0,27*	0,34**	0,41**	0,54**	0,83**	0,74**														
MSF	0,34**	0,63**	-0,18	0,26*	0,22	0,40**	0,52**	0,68**	0,63**	0,83**													
NFS	-0,17	0,36**	-0,42**	-0,11	-0,06	0,51**	0,56**	0,40**	0,50**	0,25*	0,23*												
MSFS	0,02	0,43**	-0,31**	0,06	0,08	0,49**	0,49**	0,46**	0,38**	0,30**	0,33**	0,87**											
VR	0,16	0,46**	-0,27*	0,03	0,16	0,42**	0,45**	0,80**	0,73**	0,79**	0,68**	0,30**	0,36**										
MSR	0,15	0,51**	-0,31**	0,04	0,22	0,46**	0,45**	0,85**	0,78**	0,84**	0,70**	0,32**	0,37**	0,89**									
A	0,01	0,21	-0,27*	-0,03	-0,01	0,23*	0,32**	0,14	0,21	0,13	0,07	0,05	0,04	0,02	-0,01								
g	-0,20	-0,27*	-0,05	-0,22	-0,26*	-0,21	-0,15	-0,33**	-0,23*	-0,32**	-0,37**	-0,10	-0,17	-0,40**	-0,38**	0,21							
Tr	-0,15	-0,22	0,02	-0,10	-0,24*	-0,22	-0,20	-0,33**	-0,24*	-0,32**	-0,37**	-0,09	-0,13	-0,41**	-0,37**	0,10	0,68**						
EUA	0,26*	0,36**	-0,06	0,21	0,30*	0,24*	0,25*	0,40**	0,26*	0,40**	0,42**	-0,03	0,07	0,39**	0,34**	0,43**	-0,61**	-0,56**					
MSPA	0,25*	0,70**	-0,35**	0,14	0,20	0,60**	0,65**	0,94**	0,79**	0,90**	0,89**	0,36**	0,44**	0,82**	0,85**	0,12	-0,38**	-0,38**	0,45**				
NEStotal	-0,11	0,52**	-0,60**	-0,19	-0,04	0,66**	0,70**	0,80**	0,93**	0,68**	0,57**	0,59**	0,50**	0,68**	0,75**	0,28*	-0,15	-0,17	0,23*	0,77**			
MStotal	0,22	0,66**	-0,35**	0,12	0,22	0,58**	0,61**	0,94**	0,82**	0,91**	0,86**	0,36**	0,43**	0,87**	0,93**	0,08	-0,39**	-0,39**	0,43**	0,99**	0,78**		

90%	EST	LAR	HAB	CP	EP	CES	NN	MSE	NFV	AF	MSF	NFS	MSFS	VR	MSR	A	g	Tr	EUA	MSPA	NEStotal	MStotal	
EST																							
LAR	0,31**																						
HAB	0,58**	-0,01																					
CP	0,82**	0,22	0,61**																				
EP	0,44**	0,23*	0,38**	0,56**																			
CES	-0,17	0,58**	-0,38**	-0,32**	-0,07																		
NN	-0,24*	0,27*	-0,26*	-0,42**	-0,13	0,36**																	
MSE	0,09	0,57**	-0,12	-0,09	0,00	0,40**	0,36**																
NFV	-0,14	0,38**	-0,26*	-0,34**	-0,21	0,34**	0,48**	0,78**															
AF	0,29**	0,53**	0,06	0,11	0,17	0,33**	0,40**	0,75**	0,69**														
MSF	0,36**	0,61**	0,08	0,20	0,23*	0,34**	0,34**	0,77**	0,65**	0,96**													
NFS	-0,17	0,24*	-0,30**	-0,34**	-0,2	0,23*	0,42**	0,57**	0,73**	0,45**	0,35**												
MSFS	0,12	0,44**	-0,15	-0,05	0,04	0,31**	0,39**	0,63**	0,58**	0,66**	0,62**	0,82**											
VR	0,11	0,45**	-0,09	-0,04	0,11	0,34**	0,34**	0,63**	0,67**	0,80**	0,76**	0,46**	0,55**										
MSR	0,19	0,47**	-0,02	0,02	0,10	0,34**	0,35**	0,72**	0,65**	0,92**	0,88**	0,42**	0,61**	0,89**									
A	-0,27*	0,11	-0,31**	-0,22	-0,11	0,14	0,24*	0,02	0,00	-0,16	-0,10	-0,04	-0,08	-0,06	-0,10								
g	0,08	-0,10	0,28**	0,18	0,27*	-0,21	-0,14	-0,05	-0,12	0,06	0,07	-0,11	-0,10	-0,00	0,06	-0,03							
Tr	0,05	-0,21	0,27*	0,19	0,17	-0,30*	-0,19	-0,15	-0,23*	-0,11	-0,09	-0,17	-0,20	-0,13	-0,09	0,00	0,92**						
EUA	-0,17	0,19	-0,33**	-0,24*	-0,20	0,26*	0,24*	0,17	0,21	0,00	0,04	0,07	0,08	0,08	0,02	0,64**	-0,65**	-0,70**					
MSPA	0,27*	0,63**	0,02	0,10	0,16	0,38**	0,37**	0,90**	0,73**	0,94**	0,97**	0,45**	0,66**	0,75**	0,87**	-0,07	0,03	-0,11	0,09				
NEStotal	-0,15	0,37**	-0,28*	-0,30**	-0,20	0,33**	0,45**	0,75**	0,88**	0,63**	0,62**	0,63**	0,53**	0,65**	0,62**	0,12	-0,23*	-0,32**	0,33**	0,70**			
MStotal	0,26*	0,61**	0,01	0,08	0,15	0,38**	0,37**	0,88**	0,73**	0,96**	0,97**	0,46**	0,66**	0,81**	0,92**	-0,08	0,03	-0,11	0,07	0,99**	0,70**		

\*\* = Significativo a 1% de probabilidade pela estatística t (P < 0,01), \* = Significativo a 5% de probabilidade pela estatística t (P < 0,05).

Eisinger & Paim (1994) observaram que os clones de trevo branco que apresentaram baixa produção de MS foram os mesmos que cresceram menos em altura, evidenciando a correlação positiva entre produção de MS e estatura. Essa relação foi confirmada neste trabalho apenas na primeira avaliação sob alta disponibilidade hídrica, apresentando correlação positiva e altamente significativa ( $r=0,48$ ). Na primeira avaliação, o HAB correlacionou-se negativa e significativamente com o CES, NN e AF não permitindo confirmar o citado por Caràmbula (s.d.) de que as plantas de trevo branco com folhas pequenas apresentam-se mais prostradas. Entretanto, essa correlação entre HAB e AF não foi verificada na segunda avaliação.

Os índices de tolerância são usados para tornar possível a comparação de tolerância entre diferentes estações e/ou entre diferentes espécies por igualar as grandezas. Observando-se a Tabela 2, pode-se notar que tanto os índices de AF quanto os de CES e MSPA, para o primeiro e o segundo corte, não apresentaram diferença significativa entre os acessos, além de apresentarem valores muito baixos. Verifica-se que se os acessos mais tolerantes não produziram uma massa de forragem satisfatória, ou seja, esse indicativo de tolerância não seria o mais adequado, uma vez que seleciona plantas com um pequeno potencial produtivo sob condições de estresse.

Em relação à produção de MSPA, considerando-se apenas os maiores índices, sem verificar os valores absolutos de produção, a seleção de materiais mais tolerantes pode resultar em plantas com baixa produção de MS, por exemplo, como observado com os índices para MSPA total. O acessos 31 e 1 apresentaram maiores índices (0,34 e 0,33, respectivamente), sendo os acessos mais tolerantes, mas apresentam MSPA total 20% menor do que os mais produtivos no tratamento 90% e mais acima de 33% menor produção no 40% da CC. Além disso, o acesso 74, que apresenta maior MSPA total possui

um dos menores índices (0,15), mas sua produção é muito maior a 90%, sendo mais desejável nesse caso.

Tabela 2. Médias e índices de tolerância para Área foliar total na segunda avaliação e produção de matéria seca de parte aérea total na primeira avaliação (MSPA c1) e na segunda avaliação (MSPA c2) e total (MSPA total = soma dos dois cortes)

Ac	AF total		Índice	MSPA c1		Índice	MSPA c2		Índice	MSPA tot		Índice
	50%	90%		50%	90%		50%	90%		50%	90%	
1	8,90	97,33	0,09 A	0,1	0,13	0,58 A	0,10	0,47	0,21 A	0,20	0,60	0,33 A
2	4,94	123,44	0,04 A	0,0	0,22	0,12 A	0,04	0,58	0,07 A	0,04	0,80	0,05 A
10	12,05	83,00	0,15 A	0,0	0,09	0,27 A	0,10	0,46	0,23 A	0,10	0,55	0,18 A
17	32,32	486,19	0,07 A	0,2	0,71	0,31 A	0,43	2,41	0,18 A	0,63	3,12	0,20 A
18	34,28	442,36	0,08 A	0,2	0,73	0,33 A	0,41	2,47	0,16 A	0,61	3,20	0,19 A
20	24,19	266,86	0,09 A	0,2	0,56	0,29 A	0,31	1,44	0,22 A	0,51	2,00	0,26 A
31	23,86	136,37	0,17 A	0,1	0,16	0,64 A	0,21	0,75	0,28 A	0,31	0,91	0,34 A
35	11,03	155,51	0,07 A	0,0	0,24	0,09 A	0,07	0,84	0,09 A	0,07	1,08	0,06 A
38	24,96	183,35	0,14 A	0,1	0,32	0,28 A	0,24	1,07	0,23 A	0,34	1,39	0,24 A
39	11,61	87,67	0,13 A	0,0	0,16	0,22 A	0,10	0,64	0,16 A	0,10	0,80	0,13 A
41	27,95	308,21	0,09 A	0,1	0,58	0,22 A	0,44	2,30	0,19 A	0,54	2,88	0,19 A
44	32,46	344,99	0,09 A	0,2	0,70	0,35 A	0,44	1,58	0,28 A	0,64	2,28	0,28 A
57	25,54	317,20	0,08 A	0,3	0,99	0,29 A	0,35	2,03	0,17 A	0,65	3,02	0,22 A
67	19,97	203,97	0,10 A	0,1	0,30	0,32 A	0,20	1,34	0,15 A	0,30	1,64	0,18 A
74	56,62	583,41	0,10 A	0,2	1,43	0,16 A	0,50	3,31	0,15 A	0,70	4,74	0,15 A
75	60,16	374,24	0,16 A	0,3	1,30	0,21 A	0,65	2,21	0,29 A	0,95	3,51	0,27 A
78	50,19	306,21	0,16 A	0,2	0,58	0,38 A	0,57	1,91	0,30 A	0,77	2,49	0,31 A
79	14,76	130,62	0,11 A	0,1	0,19	0,40 A	0,16	0,73	0,22 A	0,26	0,92	0,28 A

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Portanto, de acordo com esses resultados, a utilização de índices de tolerância não é uma boa ferramenta para a seleção, uma vez que se procuram acessos com boa produção de forragem sob a condição de estresse, evitando-se acessos altamente tolerantes, mas que não produzam forragem de maneira satisfatória.

### **Conclusões**

O déficit hídrico teve um efeito marcante sobre a maioria das variáveis, como AF, NFV, MSF MSE, MSR, MSPA, taxa fotossintética, condutância e EUA. Os acessos 74 e 75 foram os mais tolerantes ao déficit hídrico, pois apresentaram maior produção de MS sob condição de estresse, contudo o acesso 74 apresentou ainda maior produção quando a água não foi limitante. O NFV e a LAR poderiam ser usadas para a seleção precoce de plantas de trevo branco para tolerância ao estresse hídrico.

### **Agradecimento**

Ao CNPq pela bolsa de estudos concedida, ao Departamento de Agricultura dos Estados Unidos pelo fornecimento das sementes, aos bolsistas de Iniciação Científica pela ajuda nas avaliações, pesagens e tabulação de dados, em especial ao Daniel Portela Montardo pelo grande auxílio com a análise estatística.

### Literatura Citada

- ALVES, M.I.F.; MACHADO, A.A.; ZONTA, E.P. Tópicos especiais de estatística experimental utilizando o SANEST (Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores). In: SIMPÓSIO DE ESTATÍSTICA APLICADA À EXPERIMENTAÇÃO AGRONÔMICA, 5.; REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 38., 1993, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Departamento de Estatística da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1993. p.1-110.
- ANNICCHIARICO, P.; PIANO, E. Indirect selection for root development of white clover and implications for drought tolerance. **J. Agronomy & Crop Science**, v.190, p.28-34, 2004.
- BEINHART, G. Effects of environment on meristematic development, leaf area, and growth of white clover. **Crop Science**, v.3, n.1, p.209-214, 1963.
- BORTOLINI, F. DALL'AGNOL, M.; SCHIFINO-WITTMANN, M.T. et al. Caracterizações morfológica e agronômica e divergência genética em germoplasma de trevo branco. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1601-1610, 2006.
- CARÀMBULA, M. **Produccion y manejo de pasturas sembradas**. Montevideo: Hemisferio Sur, [19\_\_]. 464 p.
- EISINGER, S.M.; PAIM, N.R. Avaliação de clones de trevo branco sob diferentes níveis de calcário e fósforo do solo. I. Taxas de crescimento e produção de forragem. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.23, n.3, p.383-393, 1994.
- GARCÍA, J.A.; BARÚ, N.; VERNAZZA, R. Riego y producción de semillas de trébol blanco. In: JORNADA DE TREBOL BLANCO, 1., 2000, Estanzuela. [**Anais...**] Estanzuela: INIA, 2000. p.13-18. (Serie Actividades de Difusión, 241).
- GUSTINE, D.L.; VOIGT, P.W.; BRUMMER, E.C. et al. Genetic variation of RAPD markers for north american white clover collections and cultivars. **Crop Science**, v.42, p.343-347, 2002.
- IANNUCCI, A.; RUSSO, M.; ARENA, L. et al. Water deficit effects on osmotic adjustment and solute accumulation in leaves of annual clovers. **European Journal of Agronomy**, v.16, p.111-122, 2002.
- LUCERO, D.W.; GRIEU, P.; GUCKERT, A. Water deficit and plant competition effects on growth and water-use efficiency of White clover (*Trifolium repens* L.) and ryegrass (*Lolium perenne* L.). **Plant and Soil**, v.277, p.1-15, 2000.
- MARSHALL, A.H.; RASCLE, C.; ABBERTON, M.T. et al. Introgression as a Route to Improved Drought Tolerance in White Clover (*Trifolium repens* L.). **J. Agronomy & Crop Science**, v.187, p.11-18. 2001.
- MILANO, L.R. **Caracterização morfológica de trevo branco (*Trifolium repens* L.)**. Bagé, 2007. 77f. Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas) - Faculdade de

Ciências Biológicas da Universidade da Região da Campanha – URCAMP, 2007

- MULLET, J.E.; WHITSITT, M.S. Plant cellular responses to water deficit. **Plant Growth Regulation**, v.20, p.119-124, 1996.
- NABINGER, C. Técnicas de melhoramento de pastagens naturais no Rio Grande do Sul. In: SEMINÁRIO SOBRE PASTAGENS: “DE QUE PASTAGENS NECESSITAMOS”, 1980, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: FARSUL, 1980. p.28-58.
- OLMOS, F.; WILMAN, D.; HAMILTON, R.S. Variation between and within *Trifolium repens* L. Populations collected from sown swards in Uruguay. **Euphytica**, v.130, p.131-141, 2003.
- PAIM, N.R.; RIBOLDI, J. Duas novas cultivares de trevo branco comparadas com outras disponíveis no Rio Grande do Sul, em associação com gramíneas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, n.1, p.43-53, 1994.
- PIANO, E.; ANNICCHIARICO, P. Persistence of ladino white clover ecotypes and relationship with other agronomic traits. **Grass Forage Sci.**, v.50, p.195-198, 1995.
- ROSSO B.S.; PAGANO E.M. Collection and characterization of naturalized populations of white clover (*Trifolium repens* L.) in Argentina. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.48, p.513-517, 2001.
- SANDERSON, M.A.; BYERS, R.A.; SKINNER, R.H. et al. Growth and complexity of white clover stolons in response to biotic and abiotic stress. **Crop Science**, v.43, p.2197-2205, 2003.
- SAS INSTITUTE. SAS: STAT user's guide: Statistics. NC State Univ. Press. Cary, NC. [8.02]. 2001. Cary, NC, SAS Institute.
- SEKER, H.; ROWE, D.E.; BRINK, G.E. White clover morphology changes with stress treatments. **Crop Science**, v.43, p.2218-2225, 2003.
- STRECK, E.V.; KÄMPF, N.; DALMOLIN, R.S.D. et al. **Solos do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: EMATER/RS; UFRGS, 128p, 2002.
- THOMAS, H.; GAY, A.P. Characterization of forages for drought resistance. In: TYLER, B. F. (Ed). **Collection characterization and utilization of genetic resources of temperate forage grass and clover**. Rome: IBPGR, 1987, p.29-35.
- WILKINSON, S.; CORLETT, J.E.; OGER, K. et al. Effects of xylem pH on transpiration from wild-type and flacca tomato leaves. **Plant Physiology**, v.117, p.703-709, 1998.



## **CAPÍTULO IV**

**ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE 81 ACESSOS DA  
COLEÇÃO NUCLEAR DE TREVO BRANCO (*Trifolium repens* L.)  
ATRAVÉS DE MARCADORES ISOENZIMÁTICOS E MICROSSATÉLITES**

## **Análise da diversidade genética entre 81 acessos da coleção nuclear de trevo branco (*Trifolium repens* L.) através de marcadores isoenzimáticos e microssatélites<sup>12</sup>**

Fernanda Bortolini<sup>2</sup>, Miguel Dall' Agnol<sup>3</sup>, Viviane Falkembach Pretz<sup>4</sup>, Caroline Pont<sup>5</sup>, Jérôme Salse<sup>5</sup>, Maria Teresa Schifino-Wittmann<sup>6</sup>

RESUMO - O trevo branco (*Trifolium repens* L.) é uma das mais importantes leguminosas forrageiras de regiões temperadas do mundo, sendo uma das espécies mais utilizadas em pastagens durante o inverno e primavera no Rio Grande do Sul. O objetivo desse trabalho foi analisar a diversidade genética entre os acessos da coleção nuclear de trevo branco através de marcadores isoenzimáticos e microssatélites. Para a análise isoenzimática, foram avaliados 47 acessos, resultando em um total de 18 bandas esterase detectadas, sendo nove  $\alpha$  e nove  $\beta$ , assim como 43 tipos de zimogramas para o padrão de esterase nos acessos estudados. A distância média através do coeficiente de Nei (1972) foi 0,73, variando de 0 a 1,79, evidenciando cinco grupos formados. Em relação aos microssatélites, foram analisados 81 acessos de trevo branco e detectados 70 alelos nos nove locos analisados, com uma média de 7,8 alelos por loco. Todos os iniciadores apresentaram-se polimórficos, variando de 2 a 13 alelos por loco, e os tamanhos alélicos variaram de 128 a 315 pares de bases (pb). O conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) para os nove iniciadores variou de 0,26 (prs582) a 0,86 (prs612), com média de 0,67. A distância genética média entre os 81 acessos foi 0,68 (coeficiente de Nei) e utilizando esse valor como ponto de corte verifica-se a formação de sete grupos. Portanto, tanto a análise bioquímica quanto a molecular foram eficientes para detectar e quantificar a grande variabilidade existente entre os acessos de trevo branco, permitindo, a qual poderia se útil acrescentando uma maior eficiência aos programas de melhoramento, ao auxiliar na seleção precoce e na utilização dos recursos genéticos disponíveis.

Palavras-chave: esterase, forrageira hibernal, marcador molecular, SSR, variabilidade genética

---

<sup>1</sup>Artigo redigido nas normas da Crop Breeding and Applied Biotechnology.

<sup>2</sup>Aluna de Doutorado PPGZootecnia/Plantas Forrageiras/UFRGS, Bolsista CNPq e Capes. E-mail: [ferbortolini@gmail.com](mailto:ferbortolini@gmail.com)

<sup>3</sup>Professor adjunto da Faculdade de Agronomia/Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia/UFRGS. E-mail: [migueld@ufrgs.br](mailto:migueld@ufrgs.br)

<sup>4</sup>Aluna do curso de graduação em Agronomia/UFRGS.

<sup>5</sup>Unité de Génétique, Diversité et Ecophysiologie des Céréales-GDEC/INRA/Clermont-Ferrand, France

<sup>6</sup>Professor adjunto da Faculdade de Agronomia/Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia /UFRGS.

**Genetic diversity analysis among 81 accessions from the white clover (*Trifolium repens* L.) core collection using isozyme and microsatellite markers**

ABSTRACT - White clover is one of the most important forage legumes in temperate regions of the world, being one of the most used species in pastures in RS during the winter and spring. This work was aimed to evaluate the genetic diversity among 81 accessions from the white clover core collection using isozyme and microsatellite markers. In relation to the isozymes analysis, a total of 18 esterase bands were detected in the 47 accessions analyzed, being nine  $\alpha$  and nine  $\beta$ , as well as 43 zymograms types for the pattern of EST. The medium distance through Nei's coefficient (1972) was 0,73, varying from 0 to 1,79, showing the formation of five groups. In relation to the microsatellites, 81 white clover accessions were analyzed and 70 alleles were detected in nine locus analyzed, with an average of 7,8 alleles per locus. All the primers were polymorphic, varying from 2 to 13 alleles per loco and the sizes of the alleles varied from 128 to 315 pairs of bases (pb). The polymorphism information content (PIC) for the nine primers varied from 0,26 (prs582) to 0,86 (prs612), with average of 0,67. The medium genetic distance among the 81 accesses was 0,68 (Nei's coefficient) and using this value as a cutting point there was a formation of seven groups. Therefore, the biochemical and molecular analysis were efficient to detect and to quantify the high variability existent among the white clover accessions, which could be used to improve the efficiency of breeding programs, helping in the early selection of genotypes and in the utilization of the genetic resources available.

Keywords: esterase, molecular marker, SSR, variability, winter forage

## Introdução

O trevo branco (*Trifolium repens* L.), espécie alógama, alotetraplóide e autoincompatível, é uma das mais importantes leguminosas forrageiras de regiões temperadas do mundo (Williams, 1987). Além disso, é uma das leguminosas mais utilizadas em pastagens durante o inverno e primavera no Rio Grande do Sul, tanto pelo seu alto rendimento como pela sua qualidade de forragem (Nabinger, 1980). Segundo Woodfield & Caradus (1994), as mais de seis décadas de melhoramento vegetal têm resultado em um significativo aperfeiçoamento genético do trevo branco, o qual vem sendo melhorado desde 1930 (Mather et al., 1995).

O conhecimento da distância genética entre diferentes cultivares é muito utilizado nos programas de melhoramento de plantas, pois permite uma eficiente amostragem e utilização dos recursos genéticos (Kongkiatngam et al., 1996). Mais recentemente, marcadores baseados no princípio do PCR, como o RAPD, AFLP e microssatélites, têm sido desenvolvidos para acessar a variabilidade genética tanto ao nível intra como interespecífico. Contudo, segundo Lange & Schifino-Wittmann (2000), isoenzimas são poderosos marcadores bioquímicos para acessar a variabilidade genética e, têm sido utilizadas em estudos taxonômicos, genéticos, evolucionários e ecológicos. Marcadores isoenzimáticos têm sido amplamente utilizados dentro do gênero *Trifolium*, como, por exemplo, em estudos de relacionamento genético (Collins et al., 1984; Badr et al., 2002) e análise da variabilidade genética (Malaviya et al., 2005; Kongkiatngam et al., 1995; Mosjidis & Klingler, 2006; Dias, 2007).

A diversidade genética em trevo branco também tem sido verificada através de diversos marcadores moleculares, tais como RAPD (Gustine & Huff, 1999; Gustine & Sanderson, 2001; Gustine et al., 2002), AFLP (Kölliker et al., 2001a) e

microsatélites (Dolanská & Curn, 2004). A partir do desenvolvimento e caracterização de centenas de marcadores SSR por Kölliker et al. (2001b), tem aumentado o número de trabalhos com trevo branco, além dos estudos estarem atualmente em nível de mapeamento genético e identificação de QTLs (*quantitative traits loci*) para características de interesse agrônomico (Jones et al., 2003; Barrett et al., 2004; Cogan et al., 2006; Zhang et al., 2007).

De acordo com Brown (1989), quando uma coleção é descrita por uma ou poucas características, existe uma menor oportunidade de se entender os relacionamentos entre as diferentes características apresentadas por essa coleção. Por outro lado, utilizando várias características se estendem as possibilidades de evidenciar diferenças genéticas em um amplo espectro. De acordo com Divaret et al. (1999), a constituição de uma coleção nuclear necessita de uma estratificação hierárquica da coleção em grupos e o método de misturas de sementes descreveu perfeitamente a variabilidade genética da coleção de (*Brassica oleracea* L.), apresentando um agrupamento dos acessos consistentes com dados morfológicos, agrônomicos e geográficos verificados anteriormente por Margalé et al. (1995).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética entre os acessos da coleção nuclear de trevo branco proveniente do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), juntamente com três cultivares conhecidos (Huia, Ladino e Jacuí), com o auxílio de marcadores isoenzimáticos do tipo esterase e moleculares do tipo microsatélites (SSR), visando complementar as estratégias convencionais de melhoramento genético e obter maiores informações sobre o relacionamento genético entre os acessos da coleção.

## Material e Métodos

### *Germoplasma*

Foram utilizados 81 acessos de trevo branco representando 50 países, numerados de 01 a 81 (Tabela 1), sendo os primeiros 78 acessos obtidos da Coleção Nuclear de Trevo branco, cujas sementes foram provenientes do *National Plant Germoplasm System* do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (NPGS-USDA), no ano de 2000. O acesso 79, proveniente da Nova Zelândia, o acesso 80 dos EUA e o acesso 81 do Brasil (RS) foram incluídos por serem cultivares bem conhecidos, podendo ser usados para comparações. Os 81 acessos foram avaliados através de microssatélites, enquanto que 47 desses foram utilizados para a análise de isoenzimas.

Tabela 1. Identificação dos acessos de trevo branco, país de origem e estado de melhoramento

Número do acesso	USDA Identificação (PI)	País de origem	Estado de melhoramento
*1	195534	Itália	Incerto
*2	214207	Israel	Desconhecido
*3	520755	Estados Unidos	Melhorado
*4	384699	Marrocos	Selvagem
*5	449368	China	Mat. cultivado
6	494747	Romênia	Selvagem
*7	517515	Etiópia	Selvagem
*8	414366	Alemanha	Mat. cultivado
*9	420010	Japão	Incerto
*10	419325	Grécia	Selvagem
*11	418911	Itália	Selvagem
12	314764	Cazaquistão	Incerto
*13	311494	Espanha	Incerto
*14	346047	Noruega	Incerto
*15	376882	Nova Zelândia	Melhorado
16	308549	Colômbia	Incerto
*17	322699	Camarões	Incerto
*18	324903	Polônia	Incerto
*19	226596	Costa Rica	Mat. cultivado
*20	226996	Uruguai	Melhorado
*21	229655	Austrália	Incerto
22	232942	Hungria	Incerto

---

*23	234450	Bélgica	Cultivar
*24	234489	Espanha	Selvagem
25	291826	Chile	Incerto
*26	291828	Chile	Incerto
27	291829	Canadá	Cultivar
*28	291845	Austrália	Cultivar
*29	294555	França	Tipo local
30	294883	Bulgária	Tipo local
31	282381	Estados Unidos	Cultivar
*32	288084	Irlanda	Incerto
*33	288085	Irlanda	Incerto
*34	251863	Áustria	Selvagem
*35	269981	Paquistão	Incerto
36	278171	Nigéria	Incerto
*37	239979	Portugal	Incerto
*38	239983	Irã	Incerto
*39	249873	Grécia	Selvagem
40	250790	Afeganistão	Selvagem
*41	251191	Iugoslávia	Selvagem
*42	251862	Áustria	Selvagem
*43	542915	Bósnia-Herzegovina	Selvagem
44	556991	Estados Unidos	Melhorado
45	595916	Suécia	Cultivar
*46	595917	Polônia	Cultivar
*47	595918	Suécia	Cultivar
*48	298485	Israel	Incerto
49	300155	África do Sul	Tipo local
50	300156	África do Sul	Cultivar
51	306286	Argentina	Incerto
52	308000	Tunísia	Selvagem
53	308537	Peru	Incerto
54	430569	Nova Zelândia	Cultivar
55	440745	Federação Russa	Selvagem
*56	418750	Turquia	Incerto
57	166371	Índia	Tipo local
*58	180491	Índia	Incerto
*59	181812	Líbano	Incerto
60	189175	Holanda	Melhorado
61	193164	Costa Rica	Selvagem
*62	234679	França	Selvagem
63	234828	Suíça	Selvagem
64	234937	Suíça	Selvagem
65	237292	Dinamarca	Cultivar
66	237733	Alemanha	Cultivar
*67	239977	Portugal	Incerto
*68	197830	Jamaica	Incerto
*69	197871	Argentina	Incerto
70	205062	Turquia	Incerto

---

71	222210	Afeganistão	Mat. cultivado
72	226102	Quênia	Cultivar
*73	384020	Polônia	Cultivar
*74	404543	Brasil	Mat. cultivado
*75	404930	Uruguai	Mat. cultivado
76	499688	China	Selvagem
77	516411	Romênia	Incerto
*78	517126	Marrocos	Selvagem
79	Grassland Huia	Nova Zelândia	Cultivar
80	Ladino Regal	Estados Unidos	Cultivar
81	Jacuí	Brasil	Cultivar

\* Acessos utilizados na análise isoenzimática.

#### *Avaliação isoenzimática*

A análise isoenzimática foi realizada no Laboratório de Eletroforese do Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande Sul, onde foram avaliados padrões de esterase  $\alpha$  e  $\beta$  (EST, EC, 3.1.1.-) de 47 acessos da coleção nuclear de trevo branco. Primeiramente, em casa-de-vegetação, foram semeadas dez sementes de cada acesso em bandejas olerícolas contendo substrato comercial e, após aproximadamente 45 dias, as plântulas foram transplantadas para copos plásticos de 500 mL contendo o mesmo substrato. Foram utilizados para essa análise aproximadamente 100 mg de folhas jovens e sadias coletadas de plantas adultas, sob temperatura de 12°C. Essas folhas foram picadas com tesoura e maceradas em placas de porcelana colocadas sobre o gelo, com um bastão de vidro, juntamente com 140  $\mu$ L de tampão de extração e um antioxidante (pvp) para evitar a degradação do material (Collins et al., 1984), sendo posteriormente colocado um pedaço de papel filtro (1 x 4 mm) em cima do material para absorção do substrato extraído. Cada papel com o substrato extraído de cada planta, juntamente com uma gota de azul de bromofenol 1% foram aplicados em um gel de poliacrilamida 10%. A eletroforese foi conduzida sob corrente constante de 40 mA, com migração horizontal a 4°C, até as amostras se deslocarem 8 cm do ponto de aplicação, ou seja,



aproximadamente 2h30min de migração. Após, os géis foram corados com solução de coloração específica para esterase (Scandalios, 1969) a 37°C por uma hora e, então, fixados em solução de Ayala por 15 minutos para conservação dos mesmos e, posterior análise. Todas as bandas anódicas e catódicas foram analisadas, sendo caracterizadas por suas taxas de migração e por suas cores ( $\alpha$  marrom escuro a preto e  $\beta$  vermelho claro a vermelho escuro). A taxa de migração foi calculada dividindo a distância migrada pela banda pela distância migrada pela linha de frente, sendo que uma planta de *Adesmia bicolor* foi usada como controle em todos os géis.

#### *Análise dos dados de isoenzimas*

Primeiramente, foram calculados os valores de mobilidade de cada banda para todos os géis e, após a identificação das bandas, essas bandas foram registradas como características binárias, ou seja, os dados foram transformados em uma matriz binária onde foi atribuído a cada indivíduo o valor um para a presença e zero para a ausência de banda. Com auxílio do programa computacional NTSYSpc versão 2.1 (Rohlf, 2000), foi calculada a distância genética de Nei (1972), assim como foram realizadas análises de agrupamento, utilizando o método da média das distâncias (UPGMA), e a construção dos dendrogramas de distância entre os acessos. Além disso, foi realizada uma análise estatística segundo Shahi et al. (1969), calculando-se uma estimativa de variabilidade dada pelo valor padrão do número esperado de zimogramas, utilizando a seguinte fórmula: Estimativa da variabilidade (Est) =  $Ne/\sigma$ , onde Ne é a variação estimada e  $\sigma$  é o desvio padrão;  $Ne = N \{1 - [1 - (1/N)]^n\}$  e  $\sigma = \text{raiz } [1 - (1/N)]$ , onde 'N' é o número observado de diferentes zimogramas e 'n' é o número de acessos estudados.

### *Avaliação molecular*

A análise de microssatélites foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular do INRA (*Institut National de la Recherche Agronomique - Site de Crouël*) localizado na França, na cidade de Clermont-Ferrand. Primeiramente foi realizada extração de DNA de 81 acessos de trevo branco, segundo um protocolo específico com a utilização de fenol e clorofórmio, onde cada amostra foi formada pela mistura (*bulk*) de 55 a 65 sementes de cada acesso, a fim de formar uma amostra representativa. A quantificação do DNA foi realizada em espectrofotômetro.

Foram selecionados dez iniciadores específicos para trevo branco, os primeiros cinco desenvolvidos e caracterizados por Kölliker et al. (2001b) e os últimos cinco iniciadores utilizados por Barrett et al. (2004), sendo que na extremidade 5' do *forward* foram adicionados 19 nucleotídeos de um iniciador M13 universal. As reações de PCR foram preparadas em um volume de 10 µL por reação, os quais continham 3 µL da solução de trabalho de DNA (10 ng/µL), 1 µL de tampão PCR 10X contendo MgCl<sub>2</sub> a 25 mM, 0,4 µL de dNTP mix contendo 10 mM de cada um dos quatro nucleotídeos, 1 µL de um mix dos iniciadores (*forward* a 0,5 µM e *reverse* a 5 µM), 0,2 µL de Taq DNA Polimerase Qiagen (5U/µL), 0,052 µL do iniciador M13 universal marcado com o fluoróforo 6-FAM (100 µM), 0,5 µL de glicerol e 3,85 µL de água milliQ esterilizada para completar o volume. Um robô de pipetagem (BioMek 2000) foi utilizado para a distribuição do mix PCR e do DNA em placas de 384 células. As condições de PCR consistiam de uma desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguidos por: sete ciclos de 30s a 95°C, 30s a 62°C, 30s a 72°C, com uma redução na temperatura de anelamento de 1°C por ciclo, seguido de 25 ciclos de 30s a 95°C, 30s a 55°C e 30s a 72°C e, oito ciclos de 30s a 95°C, 30s a 56°C e 30s a 72°C, e por fim, uma extensão final a 72°C por

5 minutos, seguido por 15°C. Passados esses 40 ciclos, 3 µL do produto do PCR foi combinado com 5 µL de uma solução 34:10000 de peso molecular GeneScan (500 LIZ) acrescido de formamida e levado ao termociclador para desnaturação a 94°C por 5 minutos. Após, a placa era depositada no seqüenciador para, através de eletroforese capilar, detectar os fragmentos de SSR.

#### *Análise dos dados de SSR*

Os fragmentos de microssatélites detectados pela eletroforese capilar foram visualizados na forma de picos com o respectivo tamanho e intensidade e analisados primeiramente pelo programa GeneScan 3.7 e em seguida pelo Genotyper 3.7 (*Applied Biosystems*). Como foram detectados muitos picos e valores de intensidade variáveis, como critério de avaliação, foi realizada uma seleção dos picos dentro de cada acesso, ou seja, para cada acesso foi verificada a intensidade do maior pico e foram considerados apenas os picos com intensidades pelo menos 37% da maior observada. Finalmente, foi construída a matriz binária dos dados onde foi atribuído o valor um para a presença e zero para a ausência de picos, e não foram considerados alguns picos que apareceram em menos de quatro acessos dos 81 analisados, ou seja, presentes em menos de 5% das amostras. A partir dessa matriz binária, com o auxílio do programa computacional NTSYSpc versão 2.1 (Rohlf, 2000), foi calculada a distância genética de Nei (1972) e uma análise de agrupamento utilizando o método da média das distâncias (UPGMA) e, então foi construído o dendrograma de distância entre os acessos. Além disso, foi calculado o número total de alelos por loco (A), as frequências alélicas e o conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) para cada loco ( $PIC = 1 - \sum p_i^2$ , onde  $p_i$  é a frequência do alelo  $i$ ).

## Resultados e Discussão

Em relação aos dados isoenzimáticos, um total de 18 bandas esterase foram detectadas, sendo nove  $\alpha$  e nove  $\beta$ . Foram observados 43 tipos de zimogramas para o padrão de esterase nos 47 acessos de trevo branco estudados e todas as 18 bandas contribuíram para essa diferença, ou seja, foram polimórficas.

Um zimograma esterase representado por uma única banda foi encontrado em apenas um acesso, o 75 (Tabela 2). Três acessos (7, 11 e 15) apresentaram o mesmo zimograma, assim como os acessos 4 e 23 e, os acessos 5 e 24, enquanto todos os outros acessos apresentaram zimogramas específicos para cada um. Do total de 18 bandas encontradas, o número de bandas entre os acessos variou de uma a oito e a estimativa de variabilidade revelou alto grau de variação (4,15) para os tipos de zimogramas representados entre os diferentes acessos da espécie.

Esses resultados vão ao encontro dos obtidos por outros autores analisando esse mesmo sistema enzimático. Lange & Schifino-Witmann (2000) observaram um total de 18 bandas esterase analisando 11 acessos de trevo branco, além de alta variabilidade intraespecífica de *T. repens*. Malaviya et al. (2005) verificaram um total de 18 bandas e 47 tipos de zimogramas para padrões de esterase em 25 espécies de *Trifolium*, e os nove acessos de trevo branco estudados apresentaram quatro tipos de zimogramas e seis bandas esterase, sendo que cinco dessas contribuíram para a variação encontrada entre padrões de zimogramas que foi de 1,67 dentro dessa espécie. Os resultados obtidos aqui, somente dentro da espécie de *Trifolium repens*, corroboram os obtidos pelos autores anteriores, comparando 25 espécies do gênero. Dias (2007), avaliando 80 acessos da coleção nuclear de trevo vermelho, verificou um total de 14

bandas esterase, sendo oito  $\alpha$  e seis  $\beta$ , além de uma grande variabilidade intra e interpopulacional.

Tabela 2. Padrões de zimograma entre 47 acessos de *Trifolium repens*

Acessos	Número de bandas	Zimogramas observados
75	1	18
68	2	1, 13
28	4	1, 2, 13, 16
39	4	1, 3, 11, 14
37	5	1, 3, 11, 17, 18
74	8	1, 3, 12, 13, 14, 15, 16, 17
38	5	1, 3, 12, 15, 18
35	4	1, 3, 12, 17
34	3	1, 3, 13
<b>*4</b>	<b>5</b>	<b>1, 3, 13, 14, 18</b>
<b>*23</b>	<b>5</b>	<b>1, 3, 13, 14, 18</b>
1	4	1, 3, 13, 17
<b>**5</b>	<b>4</b>	<b>1, 3, 13, 18</b>
<b>**24</b>	<b>4</b>	<b>1, 3, 13, 18</b>
14	4	1, 3, 14, 17
21	4	1, 3, 15, 18
8	6	1, 3, 4, 5, 13, 17
13	7	1, 3, 8, 14, 15, 17, 18
67	6	1, 3, 8, 15, 16, 18
48	4	13, 14, 17, 18
19	5	2, 13, 14, 15, 16
3	5	2, 14, 15, 17, 18
78	4	2, 14, 15, 18
32	3	2, 3, 15
56	4	2, 4, 12, 13
29	4	2, 8, 12, 15
47	3	3, 10, 18
46	3	3, 11, 13
26	4	3, 11, 13, 18
43	4	3, 12, 14, 18
2	7	3, 13, 14, 15, 16, 17, 18
62	4	3, 13, 14, 16
<b>***7</b>	<b>4</b>	<b>3, 13, 14, 18</b>
<b>***11</b>	<b>4</b>	<b>3, 13, 14, 18</b>
<b>***15</b>	<b>4</b>	<b>3, 13, 14, 18</b>
42	3	3, 13, 16
18	3	3, 13, 17
10	3	3, 13, 18
73	4	3, 14, 15, 18
59	4	3, 14, 17, 18
33	4	3, 15, 16, 17
17	2	3, 16
58	3	3, 16, 18
20	2	3, 18
69	6	3, 6, 7, 13, 17, 18
9	5	3, 8, 14, 17, 18
41	6	3, 9, 11, 12, 16, 18
<b>Total</b>	<b>47</b>	<b>18</b>
		<b>43</b>

Acessos com o mesmo número de caracteres \* apresentaram zimogramas idênticos entre si.

De acordo com a análise de distância através do coeficiente de Nei, a distância média entre os 47 acessos analisados foi 0,73, variando de 0 a 1,79 (Figura 1). O dendrograma foi dividido no ponto de distância média e resultou em cinco grupos, onde o primeiro grande grupo apresentou 19 acessos, o segundo grupo foi formado por 13 acessos, o terceiro com oito acessos e os dois últimos pequenos grupos compreendendo cinco e dois acessos, respectivamente. Os acessos mais divergentes foram o 8 (material cultivado da Alemanha) e o 41 (selvagem da Iugoslávia), apresentando distância genética de 1,79, seguidos pelo acesso 3 (material melhorado dos EUA) em relação ao 8 e ao 41, os acessos 8 e 19 (material cultivado da Costa Rica), e esse último acesso com o 41 e o 69 (incerto da Argentina), todos com 1,70 de divergência. Analisando-se a matriz de distância entre as 1081 comparações, verificou-se um total de 100 (menos de 10%) entre os acessos com valores zero, ou seja, neste caso, acessos 100% similares para os locos de esterase analisados.

Em relação aos resultados de microssatélites, como um dos dez iniciadores não apresentou nenhuma amplificação, foram detectados 70 alelos nos nove locos analisados, com uma média de 7,8 alelos por loco. Todos os pares de iniciadores apresentaram-se polimórficos, variando de dois a 13 alelos por loco. Os tamanhos alélicos variaram de 128 a 315 pares de bases (pb) (Tabela 3). O valor médio de PIC para os nove marcadores foi 0,67, variando de 0,26 (prs582) a 0,86 (prs612).

Com relação aos cinco primeiros iniciadores de microssatélites apresentados na Tabela 3, todos, exceto o TRSSRA02C02, apresentaram maior número de alelos por loco e os mesmos valores de PIC observados por Kölliker et al. (2001b). O TRSSRA02C02 apresentou menor número de alelos e menor conteúdo de polimorfismo do que os obtidos pelos autores citados.

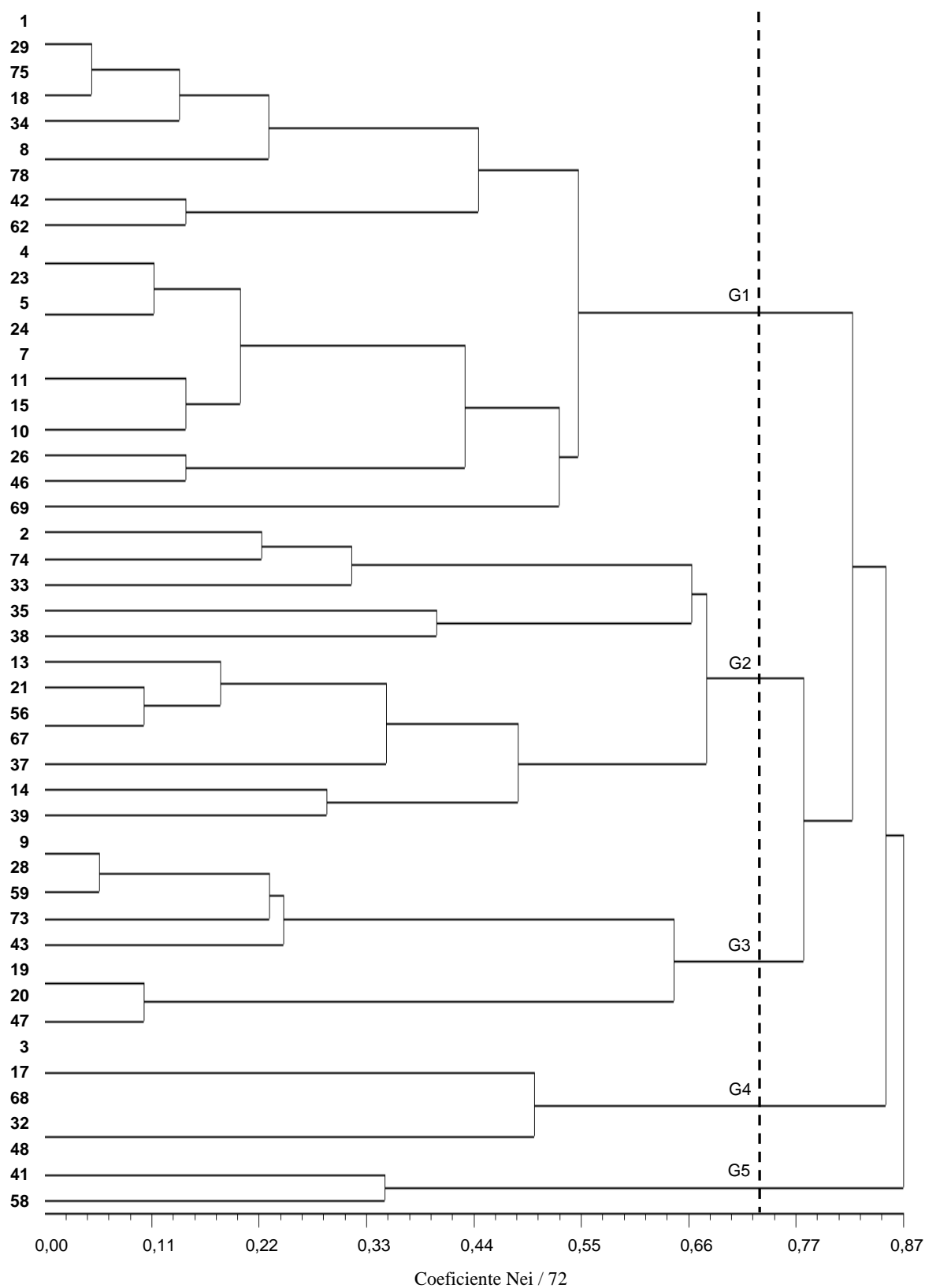


Figura 1. Dendrograma de dados binários de isoenzimas baseado na distância de Nei para 47 acessos de trevo branco. A linha tracejada indica a distância média e o ponto de corte do dendrograma.

Tabela 3. Sequência e grupo de ligação de 10 iniciadores de microssatélite testados em 81 acessos de trevo branco

Iniciador		Sequência do iniciador (5' - 3')	Repetido/classe	Grupo de ligação	Tamanho alélico (pb)	A	PIC
TRSSRA01H11	F	AGAAAGGTGAATGATGAAA	(GAA) <sub>20</sub>	G2	178 - 197	8	0.77
	R	TCTAATTCTTCCAATAGGG	Perfeito				
TRSSRRA02B08	F	TTTTGCTAATAAGTAATGCTGC	(TG) <sub>11</sub>	-	132 - 143	6	0.51
	R	GGACATTATGCAATGGTGAG	Perfeito				
TRSSRA02C02	F	AAATAAAACCACAAGTAACTAG	(CA) <sub>10</sub> (GA) <sub>6</sub>	H1, H2	161 - 171	4	0.55
	R	TATAGGTGATTTGAAATGGC	Composto				
TRSSRA02C03	F	TATGCTGGTAGATAAACTAAA	(CA) <sub>9</sub>	B1	128 - 148	13	0.82
	R	TGCTCTGGAGATTGATGG	Perfeito				
TRSSRAXX31	F	TCTGTTTTGTTGGCCATGC	(GT) <sub>7</sub>	E1	143 - 150	4	0.58
	R	TTGCAAAGTGTGGGAAGGA	Perfeito				
ats070	F	GTCATTGGTGATGGTGTCT	CA <sub>n</sub>	C1, C2, G2	247 - 293	11	0.83
	R	TTTCGTCAGTGGCGGTGCTC	Perfeito				
ats226	F	CATCTACTCACCACCACCTA	ATG <sub>n</sub>	B1	291 - 315	10	0.81
	R	CAGCAGCAGCAGCAGCGATA	Perfeito				
*prs461	F	ACCTTCCGATATCCCAAACC	TTC <sub>n</sub>	A1	X	X	X
	R	ATGGTGCGTTTGGAGATAGG	Perfeito				
prs582	F	CCGGTTCGATTCAACAAGTT	GAA <sub>n</sub>	B1	258 - 261	2	0.26
	R	CTGCAGATCCAGTAATGATTTCC	Perfeito				
prs612	F	TTGAACTAGTCGTTGGATGGG	ATG <sub>n</sub>	D2	169 - 205	12	0.86
	R	GAGAGGGTTTCAGGAACATACG	Perfeito				
Total						70	
Mean						7.8	0.67
Min - Max					128 - 315		0.26 - 0.86

\*iniciador que não amplificou para nenhum acesso; A = número total de alelos por loco; PIC = conteúdo de informação de polimorfismo para cada loco; Iniciadores TRSSR e ats = SSR genômicos; Iniciadores prs = SSR ligados a seqüências expressas do genoma ou EST (*Expressed Sequence Tag*)



Em relação ao tamanho do alelo (pb), três dos nove iniciadores apresentaram o mesmo tamanho observado pelos dois estudos anteriores, dois iniciadores apresentaram tamanhos ligeiramente menores, e os outros quatro foram ligeiramente maiores. De acordo com Dolanská & Curn (2004), os marcadores SSR desenvolvidos para *T. repens* por Kölliker et al. (2001b) apresentaram muito baixa porcentagem de locos SSR polimórficos, uma média de cinco bandas polimórficas por iniciador, mas mesmo assim esses autores identificaram diferentes populações da espécie através desses marcadores. No presente trabalho, foi observada uma média de aproximadamente oito bandas (alelos) por iniciador e, contrariamente aos autores anteriores, apenas uma foi monomórfica. Isso pode ser devido ao grande número de acessos analisados e diferenças no estado de melhoramento desses materiais, mas principalmente por fazerem parte de uma coleção nuclear que representa uma boa parte da variabilidade da espécie, visto que Dolanská & Curn (2004) analisaram a variabilidade entre alguns cultivares da espécie, que, por serem cultivares, tendem a ser mais similares entre si do que comparados com materiais selvagens. Essa grande variabilidade verificada entre os acessos estudados também não deve estar relacionada à formação de misturas (*bulks*) de aproximadamente 60 acessos para compor uma amostra, pois, segundo Kölliker et al. (2001a), quando se trabalha com mistura, remove-se a variação intrapopulacional, eliminando os alelos raros presentes em menos de 25% dos acessos e fazendo com que o padrão de amplificação represente as características compartilhadas dentro de uma população heterogênea.

Observando-se o dendrograma gerado a partir da matriz de distância genética e tomando a distância genética média (0,68) como ponto de corte, verifica-se que os 81 acessos agruparam-se em sete grupos (Figura 2).

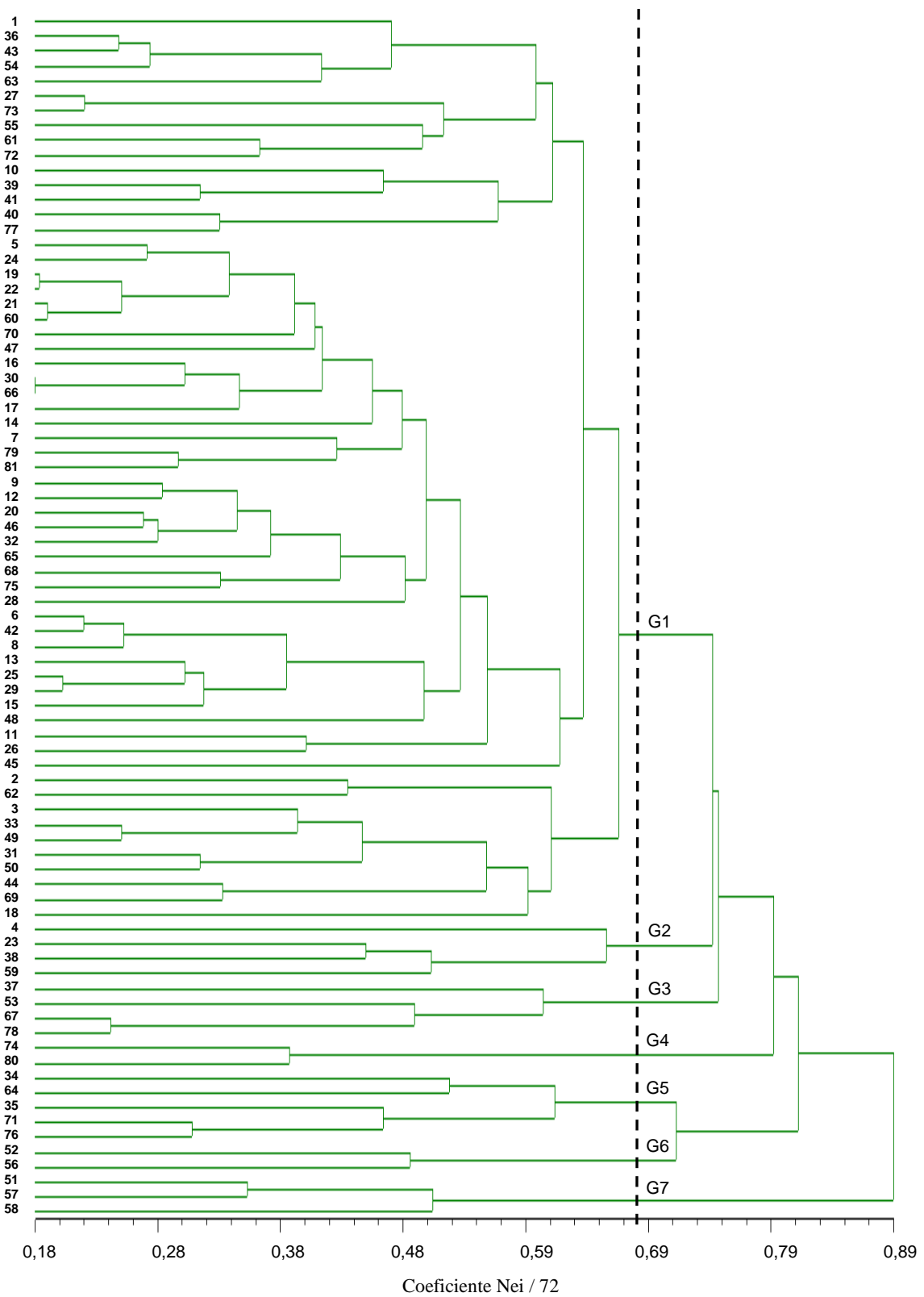


Figura 2. Dendrograma baseado na distância genética de Nei para dados de microssatélites entre 81 acessos de trevo branco. A linha tracejada indica a distância média e o ponto de corte do dendrograma.

O maior grupo foi formado por 61 acessos; o segundo e terceiro grupos ambos formados por quatro acessos; o quarto e o sexto grupos compreendendo apenas dois acessos cada um; o quinto grupo apresentando cinco acessos, e o sétimo e último grupo formado por três acessos.

A distância genética entre os acessos variou de 0,18 a 2,25, sendo que entre os acessos mais divergentes para os locos de SSR estudados (distância genética entre 2,19 e 2,25) destacam-se três acessos de estado de melhoramento incerto, o 35 (Paquistão) em relação ao acesso 51 (Argentina) e o 58 (Índia), e desse último com o 44 (material melhorado dos EUA), concordando com os resultados de Bortolini et al. (2006a), que, analisando a similaridade genética de 79 dos 81 acessos utilizados neste trabalho, através de marcadores RAPD, verificaram baixa similaridade genética, variando de 0,13 a 0,28 para tais acessos. Em contrapartida, o menor índice de distância (0,18) foi verificado entre os acessos 30 (tipo local proveniente da Bulgária) e o 66 (cultivar da Alemanha). Entre os acessos 19 (material cultivado da Costa Rica) e 22 (estado de melhoramento incerto da Hungria), assim como o 60 (melhorado da Holanda) em relação ao acesso 21 (incerto da Austrália) e o 79 (cultivar da Nova Zelândia), o índice de distância genética foi 0,19, indicando a grande similaridade entre esses acessos de diferentes estados de melhoramento e origens geográficas, os quais se encontram no maior grupo.

Quanto aos acessos mais similares obtidos neste trabalho, Bortolini et al. (2006a) observaram similaridade em torno de 0,20, indicando grande divergência entre os acessos 30 e 66, assim como aos demais acessos mais similares citados. Verificando-se os resultados de esterase para esses acessos extremos encontrados para SSR, somente a comparação entre os acessos 38 e 51 pôde ser feita, confirmando os resultados de SSR, ou seja, apresentando alta distância entre eles.

Os valores de distância genética encontrados para esterase foram similares aos obtidos através dos marcadores microssatélites. Para os dados de esterase, comparando 47 acessos, a distância média entre os acessos foi 0,73, variando de 0 a 1,79, com a formação de cinco grupos, e para os dados de SSR, comparando 81 acessos, a distância foi 0,68, variando de 0,18 a 2,25, evidenciando a formação de sete grupos. Em contrapartida, nenhum dos acessos com valores extremos de distância para esterase foi igual aos obtidos pela análise de SSR. Os acessos mais distantes para esterase apresentaram distância entre 0,53 e 0,76 para SSR e essa diferença foi mais acentuada quando observados os acessos mais similares para esterase, os quais apresentaram alta distância para SSR, (exceto entre o acesso 5 e o 24). Esses resultados reforçam o que afirmam Ferreira & Grattapaglia (1998), que um marcador não exclui o outro e sim acrescenta caracteres adicionais, gerando um quadro mais completo para o agrupamento dos genótipos e planejamento de cruzamentos.

Observando-se o dendrograma dos dados de microssatélites (Figura 2), grande parte das duplas de acessos do mesmo país de origem encontrou-se no mesmo grupo e até nos mesmos subgrupos de um mesmo grupo, como, por exemplo, os dois materiais selvagens da Grécia (acessos 10 e 39), fazendo parte do primeiro grupo com 0,33 de distância, além de dois materiais do Uruguai, os acessos 20 (melhorado) e 75 (cultivado), os quais foram separados na análise de isoenzimas, apresentando 1,24 e 0,35 de distância. Contudo, a maioria desses acessos de mesma origem geográfica que se agruparam para os SSR encontrou-se fazendo parte do primeiro grande grupo, o qual compreende 61 dos 81 acessos, não permitindo a discriminação dos acessos dentro desse maior grupo, assim como obtido por Mosjidis & Kingler (2006). Por outro lado, observando os acessos que formaram os outros seis grupos, foi possível verificar alguma relação entre as regiões geográficas e os respectivos estados de melhoramento na formação dos grupos. Por

exemplo, o quinto grupo foi formado por dois materiais selvagens, 34 e 64, da Áustria e da Suíça, respectivamente e, outros três materiais, do Paquistão, Afeganistão e China; o terceiro grupo foi formado por três materiais selvagens, dois de Portugal, um do Peru, juntamente com um selvagem do Marrocos. Os acessos 74 (material cultivado brasileiro) e 80 (cv. Ladino Regal americano) formaram um grupo distinto dos demais, apresentando-se 61% similares, provavelmente devido ao material brasileiro ter tido a participação do cultivar americano na sua formação, pois acessos de diferentes países podem apresentar um agrupamento similar devido à troca de germoplasma entre países (Johnson et al., 2002) ou podem ter sido submetidos a similares condições ambientais (Steiner & Garcia de los Santos, 2001).

Comparando-se os dendrogramas de isoenzimas e de microssatélites (Figuras 1 e 2), alguns acessos encontraram-se igualmente agrupados para os dois marcadores analisados, como, por exemplo, dois materiais de estado incerto de Portugal (acessos 37 e 67) que pertencem ao segundo grupo para os dados de esterase e ao terceiro grupo para SSR, com 0,60 e 0,49 de distância, respectivamente, além do acesso 4 (selvagem marroquino) e o 23 (cultivar holandês). Entretanto, apenas oito dos 20 acessos que formaram os seis menores grupos para SSR foram analisados através de esterase, observando-se um diferente agrupamento para esses acessos nessa última análise, além de um distinto padrão geral de agrupamento dos acessos. Contudo, essa diferença observada pelos dois marcadores pode ser devido ao reduzido número de acessos utilizados para a análise de esterase, que também não permitiu a comparação entre muitos desses pares de acessos do mesmo país de origem que formam a coleção. Para a análise de esterase, o padrão de agrupamentos não evidenciou clara relação da distribuição da variabilidade com

a distribuição geográfica e o estado de melhoramento dos acessos, como obtido por Mosjidis & Kingler (2006).

O alto grau de diversidade encontrado neste trabalho já era esperado, devido à natureza alógama (Campos-de-Quiroz & Ortega-Klose, 2001) e tetraplóide (Mengoni et al., 2000) da espécie de trevo branco. Estudos anteriores dessa espécie, baseados em microssatélites (Kölliker et al., 2001b; Dolanská & Curn, 2004), RAPD (Gustine & Huff, 1999; Gustine et al., 2002; Bortolini et al., 2006a), AFLP (Kölliker et al., 2001a) e isoenzimas (Lange & Schifino-Wittmann, 2000) também confirmam esta variabilidade. Os mesmos resultados são confirmados em outras espécies de leguminosas alógamas como, por exemplo, o trevo vermelho (*Trifolium pratense*) através de SSRs (Kölliker et al., 2003; Dias et al., 2008), RAPD (Kongkiatngam et al., 1996; Ulloa et al., 2003; Dias, 2007) e isoenzimas (Mosjidis & Kingler, 2006; Dias, 2007) e, a alfafa (*Medicago sativa*) através de SSR (Mengoni et al., 2000; Flajoulot et al., 2005) e RAPD (Mengoni et al., 2000;), as quais, juntamente com o trevo branco, apresentam macro-colinearidade entre elas (Zhang et al., 2007).

Como essa mesma coleção nuclear estudada já foi anteriormente caracterizada através de marcadores morfológicos e moleculares do tipo RAPD por Bortolini et al. (2006a e b), esse estudo representa um passo a mais na avaliação da variabilidade genética e na caracterização desses acessos que compõem a coleção nuclear da espécie, a fim de obter mais informações e elucidar os relacionamentos genéticos entre esses acessos (Mengoni et al., 2000).

### **Conclusões**

Ambos os marcadores foram eficientes para detectar e quantificar a alta variabilidade existente, mostrando-se capazes de separar os acessos de trevo branco da coleção nuclear da espécie em diferentes grupos, sendo os valores de distância genética média encontrados, 0,73 e 0,68, para isoenzimas e microssatélites, respectivamente. Contudo, não foi possível verificar clara relação da distribuição da variabilidade com a distribuição geográfica e o estado de melhoramento dos acessos pertencentes à coleção, embora ambas as análises, mas principalmente os dados de microssatélites, tenham verificado alguma relação a esse respeito.

### **Agradecimentos**

A Capes pela bolsa de estudos para a realização do estágio de Doutorado no exterior, ao CNPq pela bolsa de Doutorado e aos professores, pesquisadores, estudantes e técnicos, da antiga *Unité d'Amélioration et Santé des Plantes – ASP*, atual *Génétique, Diversité et Ecophysiologie des Céréales – GDEC / INRA / Clermont-Ferrand / França* e do Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da UFRGS pela ajuda e aprendizado.

## Referências

- Badr A, Sayed-Ahmed H, El-Shanshoury A and Watson LE (2002) Ancestors of white clover (*Trifolium repens* L.), as revealed by isozyme polymorphisms. **Theoretical and Applied Genetics** **106**: 143-148.
- Barrett B, Griffiths A, Schreiber M. et al. (2004) A microsatellite map of white clover. **Theoretical and Applied Genetics** **109**: 596-608.
- Bortolini F, Dall'Agnol M and Schifino-Wittmann MT (2006a) Molecular characterization of the USDA white clover (*Trifolium repens* L.) core collection by RAPD markers. **Genetic Resources and Crop Evolution** **53**: 1081-1087.
- Bortolini F, Dall'Agnol M, Schifino-Wittmann MT et al. (2006b) Caracterizações morfológica e agrônômica e divergência genética em germoplasma de trevo branco. **Revista Brasileira de Zootecnia** **35**: 1601-1610.
- Brown AH (1989) Core collections: a practical approach to genetic resources management. **Genome** **31**: 818-824.
- Campos-de-Quiroz H and Ortega-Klose F (2001) Genetic variability among elite red clover (*Trifolium pratense* L.) parents used in Chile as revealed by RAPD markers. **Euphytica** **122**: 61-67.
- Cogan NOI, Abberton MT and Smith KF (2006) Individual and multi-environment combined analyses identify QTLs for morphogenetic and reproductive development traits in white clover (*Trifolium repens* L.). **Theoretical and Applied Genetics** **112**: 1401-1415.
- Collins WJ, Rossiter RC and Haines Y (1984) Identification of subterranean clover cultivars and their relationship by isozyme analysis. **Australian Journal of Agricultural Research** **35**: 399-411.
- Dias PMB (2007) **Caracterização e análise da diversidade genética da coleção nuclear de germoplasma de trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.) através de marcadores morfológicos, bioquímicos e moleculares**. Tese (Doutorado), Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 139p.
- Dias PMB, Julier B, Sampoux J. et al. (2008) Genetic diversity in red clover (*Trifolium pratense* L.) revealed by morphological and microsatellite (SSR) markers. **Euphytica** **160**: 189-205.
- Divaret I, Margalé E and Thomas G (1999) RAPD markers on seed bulks efficiently assess the genetic diversity of *Brassica oleracea* L. collection. **Theoretical and Applied Genetics** **98**: 1029-1035.
- Dolanská L and Curn V (2004) Identification of white clover (*Trifolium repens* L.) cultivars using molecular markers. **Plant Soil and Environment** **50**: 95-100.



Ferreira ME and Grattapaglia D (1998) **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. EMBRAPA-CENARGEN, Brasília, 220p.

Flajoulot S, Ronfort J, Baudouin P, Barre P, Huguet T, Huyghe C and Julier B (2005) Genetic diversity among alfalfa (*Medicago sativa*) cultivars coming from a breeding program, using SSR markers. **Theoretical and Applied Genetics** **111**: 1420-1429.

Gustine DL and Huff DR (1999) Genetic variation within and among white clover populations from managed permanent pastures of the northeastern USA. **Crop Science** **39**: 524-530.

Gustine D L and Sanderson M (2001) Quantifying spatial and temporal genotypic changes in white clover populations by RAPD technology. **Crop Science** **41**: 143-148.

Gustine DL, Voigt E, Brummer C and Papadopoulos YA (2002) Genetic variation of RAPD markers for north american white clover collections and cultivars. **Crop Science** **42**: 343-347.

Johnson RC, Johnson WJ, Golob CT, Nelson MC and Soreng RJ (2002) Characterization of the USDA *Poa pratensis* collection using RAPD markers and agronomic descriptors. **Genetic Resources and Crop Evolution** **49**: 349-361.

Jones ES, Hughes LJ, Drayton MC et al. (2003) An SSR and AFLP molecular marker-based genetic map of white clover (*Trifolium repens* L.). **Plant Science** **165**: 531-539.

Kölliker R, Jones ES, Jahufer MZZ and Foster JW (2001a) Bulked AFLP analysis for the assessment of genetic diversity in white clover (*Trifolium repens* L.). **Euphytica** **89**: 355-361.

Kölliker R, Jones ES, Drayton MC et al. (2001b) Development and characterisation of simple sequence repeat (SSR) markers for white clover (*Trifolium repens* L.). **Theoretical and Applied Genetics** **102**: 416-424.

Kölliker R, Herrmann D, Boller B and Widmer F (2003) Swiss Mattenklees landraces, a distinct and diverse genetic resource of red clover (*Trifolium pratense* L.). **Theoretical and Applied Genetics** **107**: 306-315.

Kongkiatngam P, Waterway MJ, Fortin MG and Coulman BE (1995) Genetic variation within and between two cultivars of red clover (*Trifolium pratense* L.): comparisons of morphological, isozyme, and RAPD markers. **Euphytica** **84**: 237-246.

Kongkiatngam P, Waterway MJ, Coulman BE and Fortin MG (1996) Genetic variation among cultivars of red clover (*Trifolium pratense* L.) detected by RAPD markers amplified from bulk genomic DNA. **Euphytica** **89**: 355-361.

Lange O and Schifino-Wittmann MT (2000) Isozyme variation in wild and cultivated species of the genus *Trifolium* L. (Leguminosae). **Annals of Botany** **86**: 339-345.

Malaviya DR, Kumar B, Roy AK, Kaushal P and Tiwari A (2005) Estimation of variability of five enzyme systems among wild and cultivated species of *Trifolium*. **Genetic Resources and Crop Evolution** **52**: 967-976.

Margalé E, Hervé Y, Hu J and Quiros CF (1995) Determination of genetic variability by RAPD markers in cauliflower, cabbage and kale local cultivars from France. **Genetic Resources and Crop Evolution** **42**: 281-289.

Mather RDJ, Melhuish DT and Herlihy M (1995) Trends in the global marketing of white clover cultivars. In: WOODFIELD, D. R. (ed), **White clover: New Zealand's competitive edge**, Lincoln University, New Zealand, pp. 7-14.

Mengoni A, Gori A and Bazzicalupo M (2000) Use of RAPD and microsatellite (SSR) variation to assess genetic relationships among populations of tetraploid alfalfa, *Medicago sativa*. **Plant Breeding** **119**: 311-317.

Mosjidis JA and Klingler K A (2006) Genetic diversity in the core subset of the US red clover germplasm. **Crop Science** **46**: 758-762.

Nabinger C (1980) Técnicas de melhoramento de pastagens naturais no Rio Grande do Sul. In: SEMINÁRIO SOBRE PASTAGENS: "DE QUE PASTAGENS NECESSITAMOS". **Anais...** Porto Alegre: FARSUL, p. 28-58.

Nei M (1972) Genetic distance between populations. **Am. Nat.** **106**: 283-292.

Rohlf FJ (2000) NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.1. Exter Software, New York.

Scandalios JG (1969) Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. **Biochemical Genetics** **3**: 37-79.

Shahi BB, Morishima H and Oka HI (1969) A survey of variations in peroxidase and esterase isozymes of wild and cultivated *Oryza* species. **Jpn. J. Genet** **44**: 303-319.

Steiner JJ and Garcia de los Santos G (2001) Adaptive ecology of *Lotus corniculatus* L. Genotypes: I. Plant morphology and RAPD marker characterizations. **Crop Science** **41**: 552-563.

Ulloa O, Ortega F and Campos H (2003) Analysis of genetic diversity in red clover (*Trifolium pratense* L.) breeding populations as revealed by RAPD genetic markers. **Genome** **46**: 529-535.

Williams WM (1987) White clover taxonomy and bioestematics. In: Baker, M.J., Williams, W.M. (ed) **White clover**. CAB International, Wallingford, p.323-342.

Woodfield DR and Caradus JR (1994) Genetic improvement in white clover representing six decades of plant breeding. **Crop Science** **34**: 1205-1213.

Young-Goo P, Kaundun SS and Zhyvoloup A (2002) Use of the bulked genomic DNA-based RAPD methodology to assess the genetic diversity among abandoned Korean tea plantations. **Genetic Resources and Crop Evolution** **49**: 159-165.

Zhang Y, Sledge K and Bouton JH (2007) Genome mapping of white clover (*Trifolium repens* L.) and comparative analysis within the Trifolieae using cross-species SSR markers. **Theoretical and Applied Genetics** **114**: 1367-1378.

## **CAPITULO V**

## 5.1 Considerações Gerais

O déficit hídrico teve um significativo efeito sobre a maioria das variáveis, como EST, AF, NFV, CES, MSF, MSE, MSR, MSPA, taxa fotossintética, condutância e EUA, e os genótipos apresentaram respostas variáveis ao estresse hídrico.

Em relação ao experimento inicial, o acesso que se destacou sob déficit hídrico foi o 1, pois apresentou maior produção de MS sob alta disponibilidade hídrica, e uma das maiores produções de MS na presença de déficit hídrico. As variáveis NFV e taxa fotossintética poderiam ser usadas para a seleção precoce de plantas de trevo branco para tolerância ao estresse hídrico.

Considerando-se o segundo experimento, os acessos mais tolerantes ao déficit hídrico foram o 74 e o 75, pois apresentaram maior produção de MS sob condição de estresse, contudo o acesso 74 apresentou ainda maior produção quando a água não foi limitante. As características NFV e LAR poderiam ser utilizadas para a seleção precoce de plantas de trevo branco para tolerância ao estresse hídrico.

Tanto os marcadores moleculares como os isoenzimáticos foram eficientes para detectar e quantificar a grande variabilidade existente, mostrando-se capazes de separar os acessos de trevo-branco da coleção nuclear da espécie em diferentes grupos.

A alta divergência média encontrada através dos padrões de

esterase foi similar à obtida através dos microssatélites, apresentando uma distância de 0,73 e 0,68, respectivamente.

Não foi possível verificar uma clara relação da distribuição da variabilidade com a distribuição geográfica e o estado de melhoramento dos acessos pertencentes à coleção.

## 5.2 Referências Bibliográficas

- ANNICCHIARICO, P.; PIANO, E. Indirect selection for root development of white clover and implications for drought tolerance. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Berlin, v. 190, n.1, p. 28-34, 2004.
- ARANA, S.; PIÑEIRO, G.; GARCÍA, J. et al. Riego y manejo en la productividad de pasturas con trébol blanco. In: JORNADA DE TREBOL BLANCO, 2000, Estanzuela. [**Anais...**] Estanzuela: INIA, 2000. p. 5-12. (Serie Actividades de Difusión, 241).
- BADR, A.; SAYED-AHMED, H.; EL-SHANSHOURI, A. et al. Ancestors of white clover (*Trifolium repens* L.), as revealed by isozyme polymorphisms. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.106, p.143-148, 2002.
- BALL, D. M.; HOVELAND, C. S.; LACEFIELD, G. D. **Southern forages**. Georgia: Potash & Phosphate Institute (PPI) and Foundation for Agronomic Research (FAR), 1996. 264 p.
- BARRETT, B.; GRIFFITHS, A.; SCHREIBER, M. et al. A microsatellite map of white clover. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 109, p. 596-608, 2004.
- BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Science**, Boca Raton, v.24, n.1, p.23-58, 2005.
- BORTOLINI, F.; DALL'AGNOL, M.; SCHIFINO-WITTMANN, M.T. Molecular characterization of the USDA white clover (*Trifolium repens* L.) core collection by RAPD markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v.53, n.5, p.1081-1087, 2006a.
- BORTOLINI, F.; DALL'AGNOL, M.; SCHIFINO-WITTMANN, M.T. et al. Caracterizações morfológica e agrônômica e divergência genética em germoplasma de trevo-branco. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n.4, p.1601-1610, 2006b.
- BRAY, E.A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stresses. In: **BIOCHEMISTRY and Molecular Biology of Plants**. Rockville, M.D.: American Society of Plants Physiologists, 2000. p.1158-1249.
- BROWN, A.H. Core collections: a practical approach to genetic resources management. **Genome**, Ottawa, v.31, p.818-824, 1989.
- CARADUS, J.R.; WILLIAMS, W.M. Breeding for legume persistence in New Zealand. In: MATERN, G.C.; MATCHES, A.G.; BARNES, R.F.; BROUGHAM, R.W.; CLEMENTS, R.J.; SHEATH, G.W. (Eds). **Persistence of forage legumes**. Madison: American Society of Agronomy, 1988. p.523-540. Proceedings of the Trilateral Workshop, Hawaii.

CARADUS, J.R. Frost tolerance of *Trifolium* species. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, v.38, n.2, p.157-162, 1995.

CAVALLI, S.S. Polimorfismos Moleculares. In: FREITAS, L.B.; BERED, F. **Genética & Evolução Vegetal**. Porto Alegre: UFRGS, 2003. p.311-332.

CHARCOSSET, A.; MOREAU, L. Use of molecular markers for the development of new cultivars and the evaluation of genetic diversity. **Euphytica**, Dordrecht, v. 137, p.81-94, 2004.

CHOWDHURY, M.A.; SLINKARD, A.E. Genetic diversity in grasspea (*Lathyrus sativus* L.). **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v.47, p.163-169, 2000.

COGAN, N.O.I.; ABBERTON, M.T.; SMITH, K.F. Individual and multi-environment combined analyses identify QTLs for morphogenetic and reproductive development traits in white clover (*Trifolium repens* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.112, p.1401-1415, 2006.

DIAS, P.M.B. **Caracterização e análise da diversidade genética da coleção nuclear de germoplasma de trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.) através de marcadores morfológicos, bioquímicos e moleculares**. 2007. 139f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

DOLANSKÁ, L.; CURN, V. Identification of white clover (*Trifolium repens* L.) cultivars using molecular markers. **Plant Soil and Environment**, Prague, v.50, n.3, p.95-100, 2004.

FALEIRO, G.F. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso dos recursos genéticos**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília : Embrapa-Cenargen, 1998. 220p.

GARCÍA, J.A. **Varietades de trebol blanco**. Montevideo: INIA, 1995. 12 p. (Série Técnica, 70).

GARCÍA, J.A.; BARÚ, N.; VERNAZZA, R. Riego y producción de semillas de trébol blanco. In: JORNADA DE TREBOL BLANCO, 2000, Estanzuela. [Anais...] Estanzuela: INIA, 2000. p. 13-18. (Serie Actividades de Difusión, 241).

GIANFRANCESCHI, L.; SEGLIAS, N.; TARCHINI, R. et al. Simple sequence repeats for the genetic analysis of apple. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.96, p.1069-1076, 1998.



GIBSON, P.B.; HOLLOWELL, E.A. White clover. In: AGRICULTURE handbook. Washington, D. C.: USDA, 1966. 314p.

GILBERT, J.E.; LEWIS, R.V.; WILKINSON, M.J.; CALIGARI, P.D.S. Developing an appropriate strategy to assess genetic variability in plant germplasm collections. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.98, p.1125-1131, 1999.

GILLETT, J.M.; TAYLOR, N.L. **The world of clovers**. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 2001.

GUSTINE, D.L.; HUFF, D.R. Genetic variation within and among white clover populations from managed permanent pastures of the northeastern USA. **Crop Science**, Madison, v. 39, p.524-530, 1999.

GUSTINE, D.L.; SANDERSON, M. Quantifying spatial and temporal genotypic changes in white clover populations by RAPD technology. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 4, p. 143-148, 2001.

GUSTINE, D.L.; VOIGT, P.W.; BRUMMER, E.C. et al. Genetic variation of RAPD markers of North American white clover collections and cultivars. **Crop Science**, Madison, v.42, p.343-347, 2002.

HOLLOWELL, E.A. Ladino and other white clovers. IN: HUDGES, H.D.; HEATH, M.; METCALFE, D. **Forages**. 2.ed. Ames, Iowa : The Iowa State University Press, 1967.

IANNUCCI, A.; RUSSO, M.; ARENA, L. et al. Water deficit effects on osmotic adjustment and solute accumulation in leaves of annual clovers. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 16, n.2, p.111-122, 2002.

JONES, E.S.; HUGHES, L.J.; DRAYTON, M.C. et al. An SSR and AFLP molecular marker-based genetic map of white clover (*Trifolium repens* L.). **Plant Science**, Clare, v.165, n.3, p.531-539, 2003.

KÖLLIKER, R.; JONES E.S.; JAHUFER M.Z.Z.; FOSTER J.W. Bulked AFLP analysis for the assessment of genetic diversity in white clover (*Trifolium repens* L.). **Euphytica**, Dordrecht, v. 89, p.355-361, 2001a.

KÖLLIKER, R.; JONES, E.S.; DRAYTON, M.C. et al. Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers for white clover (*Trifolium repens* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.102, p.416-424, 2001b.

KÖLLIKER, R.; ENKERLI, J.; WIDMER, F. Characterization of novel microsatellite loci for red clover (*Trifolium pratense* L.) from enriched genomic libraries. **Molecular Ecology Notes**, Oxon, v.6, n.1, p.50-53, 2006.

KONGKIATNGAM, P.; WATERWAY, M.J.; FORTIN, M.G. et al. Genetic-variation within and between 2 cultivars of Red-clover (*Trifolium pratense* L.) -

Comparisons of morphological, isozyme and RAPD markers. **Euphytica**, Dordrecht, v.84, p.237-246, 1995.

KONGKIATNGAM, P.; WATERWAY, M.J.; COULMAN, B.E. et al. Genetic variation among cultivars of red clover (*Trifolium pratense* L) detected by RAPD markers amplified from bulk genomic DNA. **Euphytica**, Dordrecht, v. 89, p.355-361, 1996.

LANGE, O.; SCHIFINO-WITTMANN, M.T. Isozyme variation in wild and cultivated species of the genus *Trifolium* L. (Leguminosae). **Annals of Botany**, Oxford, v. 86, p.339-345, 2000.

LEWONTIN, R.C.; HUBBY, J.L. A molecular approach to study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. **Genetics**, Baltimore, v. 54, n.2, p.595-609, 1966.

Li, Y.C.; KOROL, A.B.; FAHIMA, T. et al. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. **Molecular Ecology**, Oxon, v.11, n.12, p. 2453-2465, 2002.

LUCERO, D.W.; GRIEU, P.; GUCKERT, A. Effects of water deficit and plant interaction on morphological growth parameters and yield of white clover (*Trifolium repens* L.) and ryegrass (*Lolium perenne* L.) mixtures. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v.11, n.3-4, p. 167-177, 1999.

MALAVIYA, D.R.; KUMAR, B.; ROY, A.K.; KAUSHAL, P.; TIWARI, A. Estimation of variability of five enzyme systems among wild and cultivated species of *Trifolium*. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 52, p.967-976, 2005.

MARKERT, C.L.; MOLLER, F. Multiple forms of enzymes: issue, ontogenetic and species specific patterns. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 45, n.5, 1959.

MARSHALL, A.H.; RASCLE, C.; ABBERTON, M.T. et al. Introgression as a route to improved drought tolerance in white clover (*Trifolium repens* L.). **Journal of Agronomy and Crop Science**, Berlin, v. 187, n.1, p. 11-18. 2001.

MATHER, R.D.J.; MELHUISH, D.T.; HERLIHY, M. Trends in the global marketing of white clover cultivars. In: WOODFIELD, D. R. (Ed), **White clover: New Zealand's competitive edge**. New Zealand : Lincoln University, 1995. p. 7-14, 1995.

McMANUS, M.T.; BIELESKI, R.L.; CARADUS, J.R. ; BARKER, D.J. Pinitol accumulation in mature leaves of white clover in response to a water deficit. **Environmental and Experimental Botany**, Kidlington, v. 43, n.1, p. 11-18, 2000.

MORGANTE, M.; HANAFEY, M.; POWELL, W. Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. **Nature Genetics**, New York, v.30, n.2, p.194-200, 2002.

MOSJIDIS, J.A.; KLINGLER, K.A. Genetic diversity in the core subset of the US red clover germplasm. **Crop Science**, Madison, v. 46, p.758-762, 2006.

NABINGER, C. Técnicas de melhoramento de pastagens naturais no Rio Grande do Sul. In: SEMINÁRIO SOBRE PASTAGENS: "DE QUE PASTAGENS NECESSITAMOS", 1980, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: FARSUL, 1980. p. 28-58.

PAIM, N.R. Manejo de leguminosas de clima temperado. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 9., 1988, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1988. p. 341-358.

PAIM, N.R.; RIBOLDI, J. Duas novas cultivares de trevo branco comparadas com outras disponíveis no Rio Grande do Sul, em associação com gramíneas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p.43-53, 1994.

PEDERSON, G. A. White clover and other perennial clovers. In: BARNES, R. F. et al. **Forages: an introduction to grassland agriculture**. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1995. p.227-236.

PIANO, E.; ANNICCHIARICO, P. Persistence of ladino white clover ecotypes and relationship with other agronomic traits. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 50, p. 195-198, 1995.

POWELL, W.; MACHRAY, G.C.; PROVAN, J. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. **Trends and Plant Science**, Oxford, v.1, n.7, p.215-222, 1996.

RHODES, I.; COLLINS, R.P.; EVANS, D.R. Breeding white clover for tolerance to low temperature and grazing. **Euphytica**, Dordrecht, v.77, n.3, p.239-242, 1994.

SANDERSON, M.A.; BYERS, R.A.; SKINNER, R.H. et al. Growth and complexity of white clover stolons in response to biotic and abiotic stress. **Crop Science**, Madison, v. 43, p. 2197-2205, 2003.

SAWADA, H.; YAMOUCI, K. Identification of white clover (*Trifolium repens* L.) clones using isozymes. **Japan Journal of Grass Science**, [Heidelberg], v.39, p.488-496, 1994.

SEKER, H.; ROWE, D.E.; BRINK, G.E. White clover morphology changes with stress treatments. **Crop Science**, Madison, v. 43, p. 2218-2225, 2003.

SINGH, D.K.; SALE, P.W.G. Defoliation frequency and the response by white clover to increasing phosphorus supply. I. Leaf dry matter yield and plant

morphology responses. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, Victoria, v. 48, n.1, p. 111-118, 1997a.

SINGH, D.K.; SALE, P.W.G. Phosphorus supply and the growth of frequently defoliated white clover (*Trifolium repens* L.) in dry soil. **Plant and Soil**, New York, v. 205, p. 155-162, 1998.

SINGH, D.K.; SALE, P.W.G.; PALLAGHY, C.K. et al. Phosphorus concentrations in the leaves of defoliated white clover affect abscisic acid formation and transpiration in drying soil. **New Phytologist**, New York, v. 146, n.2, p. 249-259, 2000a.

SINGH, D.K.; SALE, P.W.G.; PALLAGHY, C.K. et al. Role of proline and leaf expansion rate in the recovery of stressed white clover leaves with increased phosphorus concentration. **New Phytologist**, New York, v.146, n.2, p. 261-269, 2000b.

SINGH, T.N.; ASPINALL, D.; PALEG, L.G. Proline accumulation and varietal adaptability to drought in barley: a potential metabolic measure of drought resistance. **Nature New Biology**, Basingstoke, UK, v. 236, n.67, p. 188-189, 1972.

WILKINSON, S.; CORLETT, J.E.; OGER, K. et al. Effects of xylem pH on transpiration from wild-type and flacca tomato leaves. **Plant Physiology**, Rockville, v. 117, n.2, p. 703-709, 1998.

WILLIAMS, W.M. White clover taxonomy and biosystematics. In: BAKER, M.J.; WILLIAMS, W.M. (Ed) **White clover**. Wallingford : CAB International, 1987. p.323-342.

WOODFIELD, D.R.; CARADUS, J.R. Genetic improvement in white clover representing six decades of plant breeding. **Crop Science**, Madison, v.34, p.1205-1213, 1994.

YOSHIBA, Y.; KIYOSUE, T.; NAKASHIMA, K. et al. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. **Plant, Cell and Physiology**, Kyoto, v. 38, n.10, p. 1095-1102, 1997.

ZHANG, Y.; SLEDGE, K.; BOUTON, J.H. Genome mapping of white clover (*Trifolium repens* L.) and comparative analysis within the Trifolieae using cross-species SSR markers. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.114, n.8, p.1367-1378, 2007.

ZHIVOTOVSKY, L.A.; FELDMAN, M.W. Microsatellite variability and genetic distances. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.92, n.25, p.11549-11552, 1995.

ZOHARY, M.; HELLER, D. **The genus *Trifolium***. Israel: The Israel Academy of Sciences and Humanities, 1984. 606p.

## 5.3 Apêndices

Apêndice 1. Valores obtidos para as 23 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na primeira avaliação (Abril/2008) sob alta disponibilidade hídrica.

ACESSO	TRAT	REP	EST	LAR	HAB	NFV	NFS	CP	CF	LF	AFtot
1	90%	1	13,00	31,50	3,00	11,00	2,00	16,20	1,60	1,60	55,84
1	90%	2	14,20	9,00	3,00	5,00	4,00	12,40	1,60	1,60	24,16
1	90%	3	12,00	7,00	3,00	3,00	1,00	11,10	1,00	1,10	5,31
1	90%	4	17,50	12,00	3,00	4,00	1,00	19,20	2,00	1,70	21,09
<b>Média</b>			14,18	14,88	3,00	5,75	2,00	14,73	1,55	1,50	26,60
2	90%	1	13,00	9,00	3,00	12,00	5,00	11,50	1,50	1,35	46,03
2	90%	2	19,00	20,50	3,00	6,00	2,00	18,50	2,20	2,00	48,95
2	90%	3	15,50	26,00	3,00	9,00	0,00	17,40	1,50	1,50	39,41
2	90%	4	11,00	15,00	3,00	8,00	0,00	13,70	1,80	1,80	41,69
<b>Média</b>			14,63	17,63	3,00	8,75	1,75	15,28	1,75	1,66	44,02
10	90%	1	5,20	7,50	1,00	15,00	1,00	5,60	0,90	0,80	15,89
10	90%	2	17,50	19,50	2,00	7,00	1,00	16,20	1,90	1,50	28,27
10	90%	3	9,80	10,00	3,00	5,00	2,00	9,30	0,80	0,90	10,07
10	90%	4	6,30	10,50	3,00	18,00	7,00	5,30	0,90	0,80	19,14
<b>Média</b>			9,70	11,88	2,25	11,25	2,75	9,10	1,13	1,00	18,34
17	90%	1	12,70	30,50	2,00	39,00	8,00	15,70	1,70	1,50	155,49
17	90%	2	13,50	29,00	2,00	48,00	3,00	11,80	1,70	1,10	205,44
17	90%	3	12,10	30,00	2,00	48,00	3,00	15,50	1,50	1,40	193,97
17	90%	4	15,50	29,00	2,00	25,00	5,00	16,00	1,50	1,10	96,15
<b>Média</b>			13,45	29,63	2,00	40,00	4,75	14,75	1,60	1,28	162,76
18	90%	1	19,00	37,00	2,00	45,00	1,00	16,50	1,90	1,60	201,66
18	90%	2	13,50	20,50	2,00	32,00	3,00	11,20	1,60	1,40	97,52
18	90%	3	13,30	27,50	2,00	48,00	8,00	12,50	1,50	1,50	120,70
18	90%	4	16,00	32,00	2,00	57,00	5,00	16,30	1,60	1,60	256,94
<b>Média</b>			15,45	29,25	2,00	45,50	4,25	14,13	1,65	1,53	169,21
20	90%	1	10,00	15,50	2,00	12,00	5,00	12,50	1,60	1,50	40,23
20	90%	2	12,70	23,50	2,00	40,00	24,00	12,20	1,80	1,40	98,20
20	90%	3	13,50	30,00	2,00	98,00	17,00	12,20	1,50	1,40	238,69
20	90%	4	12,50	22,00	2,00	47,00	3,00	11,10	1,30	1,35	128,05
<b>Média</b>			12,18	22,75	2,00	49,25	12,25	12,00	1,55	1,41	126,29
31	90%	1	15,80	18,00	3,00	7,00	0,00	15,20	1,60	1,40	19,98
31	90%	2	15,70	22,50	2,00	18,00	4,00	16,20	1,50	1,45	70,48
31	90%	3	17,00	15,00	2,00	9,00	3,00	15,10	1,50	1,40	34,80
31	90%	4	14,00	18,00	3,00	22,00	3,00	12,10	1,30	1,30	60,00
<b>Média</b>			15,63	18,38	2,50	14,00	2,50	14,65	1,48	1,39	46,32
35	90%	1	8,60	12,00	3,00	25,00	0,00	8,50	0,70	0,90	24,01
35	90%	2	10,20	19,50	2,00	19,00	0,00	9,50	1,50	1,40	55,41
35	90%	3	12,50	21,00	3,00	12,00	3,00	13,00	1,60	1,70	48,18
35	90%	4	10,50	31,50	2,00	40,00	5,00	11,70	1,10	1,20	92,96
<b>Média</b>			10,45	21,00	2,50	24,00	2,00	10,68	1,23	1,30	55,14
38	90%	1	10,50	13,50	3,00	19,00	10,00	8,60	1,30	1,30	42,96
38	90%	2	6,70	22,00	1,00	38,00	2,00	8,90	1,50	1,40	106,27
38	90%	3	11,50	12,50	3,00	8,00	4,00	10,50	1,00	1,20	13,91
38	90%	4	12,50	31,00	2,00	37,00	1,00	13,40	1,60	1,50	101,98
<b>Média</b>			10,30	19,75	2,25	25,50	4,25	10,35	1,35	1,35	66,28

Apêndice 1. Continuação...Valores obtidos para as 23 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na primeira avaliação (Abril/2008) sob alta disponibilidade hídrica.

ACESSO	TRAT	REP	EST	LAR	HAB	NFV	NFS	CP	CF	LF	AFtot
39	90%	1	6,80	10,50	2,00	28,00	3,00	6,00	1,10	0,90	31,08
39	90%	2	7,60	14,00	2,00	26,00	1,00	7,40	0,80	0,90	36,81
39	90%	3	11,00	12,00	3,00	24,00	1,00	12,50	1,30	1,40	52,18
39	90%	4	6,00	13,00	2,00	26,00	1,00	8,10	1,00	0,90	19,23
<b>Média</b>			7,85	12,38	2,25	26,00	1,50	8,50	1,05	1,03	34,83
41	90%	1	10,20	31,00	1,00	119,00	3,00	9,40	1,20	1,20	208,74
41	90%	2	12,70	27,50	2,00	93,00	5,00	11,50	1,30	1,20	132,36
41	90%	3	11,00	23,00	2,00	29,00	0,00	11,50	1,50	1,40	69,55
41	90%	4	8,90	18,70	2,00	34,00	0,00	8,80	1,10	1,30	75,24
<b>Média</b>			10,70	25,05	1,75	68,75	2,00	10,30	1,28	1,28	121,47
44	90%	1	10,00	26,50	1,00	79,00	25,00	10,40	1,40	1,40	167,66
44	90%	2	11,20	17,00	2,00	73,00	5,00	10,30	1,30	1,30	145,27
44	90%	3	10,10	21,50	2,00	76,00	16,00	10,00	1,30	1,30	222,69
44	90%	4	11,00	36,00	1,00	67,00	11,00	11,00	1,30	1,50	210,37
<b>Média</b>			10,58	25,25	1,50	73,75	14,25	10,43	1,33	1,38	186,50
57	90%	1	11,00	36,00	2,00	77,00	3,00	10,50	1,30	1,20	187,60
57	90%	2	11,00	23,00	2,00	85,00	2,00	10,10	1,40	1,20	149,05
57	90%	3	11,00	28,00	2,00	97,00	5,00	10,00	1,50	1,20	237,71
57	90%	4	14,20	28,30	2,00	89,00	2,00	14,50	1,70	1,40	279,73
<b>Média</b>			11,80	28,83	2,00	87,00	3,00	11,28	1,48	1,25	213,52
67	90%	1	12,90	16,80	3,00	6,00	0,00	12,70	1,50	1,50	19,12
67	90%	2	12,00	21,50	2,00	23,00	1,00	10,30	1,30	1,20	68,86
67	90%	3	9,80	22,00	2,00	30,00	0,00	9,00	1,50	1,40	95,50
67	90%	4	11,00	22,30	1,00	15,00	3,00	10,00	1,50	1,20	43,32
<b>Média</b>			11,43	20,65	2,00	18,50	1,00	10,50	1,45	1,33	56,70
74	90%	1	16,50	31,00	2,00	51,00	0,00	12,20	1,70	1,50	272,06
74	90%	2	21,50	29,00	3,00	49,00	3,00	20,70	2,00	1,90	307,07
74	90%	3	20,50	39,80	2,00	37,00	1,00	20,00	2,20	2,00	199,49
74	90%	4	16,00	28,00	2,00	47,00	0,00	15,00	2,20	2,00	216,95
<b>Média</b>			18,63	31,95	2,25	46,00	1,00	16,98	2,03	1,85	248,89
75	90%	1	15,00	33,00	2,00	51,00	3,00	15,00	1,80	1,70	207,92
75	90%	2	17,00	28,00	2,00	35,00	1,00	14,50	2,00	1,80	187,59
75	90%	3	18,20	32,90	1,00	47,00	1,00	16,00	2,10	2,00	264,45
75	90%	4	18,00	46,00	1,00	41,00	10,00	17,00	2,00	1,70	235,63
<b>Média</b>			17,05	34,98	1,50	43,50	3,75	15,63	1,98	1,80	223,90
78	90%	1	10,50	30,00	2,00	50,00	0,00	12,10	1,80	1,55	183,87
78	90%	2	13,00	34,50	2,00	36,00	0,00	11,60	1,50	1,50	108,99
78	90%	3	9,50	15,00	2,00	34,00	0,00	7,50	1,50	1,30	75,73
78	90%	4	11,50	20,40	2,00	30,00	5,00	10,40	1,50	1,20	90,83
<b>Média</b>			11,13	24,98	2,00	37,50	1,25	10,40	1,58	1,39	114,86
79	90%	1	12,90	26,00	2,00	13,00	3,00	11,40	1,70	1,55	47,53
79	90%	2	13,30	21,50	2,00	14,00	3,00	14,00	1,50	1,40	49,59
79	90%	3	11,70	17,00	2,00	19,00	8,00	8,70	1,30	1,30	41,01
79	90%	4	14,10	11,00	3,00	6,00	1,00	13,00	2,00	1,50	17,75
<b>Média</b>			13,00	18,88	2,25	13,00	3,75	11,78	1,63	1,44	38,97







Apêndice 1. Continuação...Valores obtidos para as 23 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na primeira avaliação (Abril/2008) sob alta disponibilidade hídrica.

ACESSO	TRAT	REP	CES1	CEN	EEN	NN	NES2	NEStotal	NI	MSF	MSFS
1	90%	1	1,50		0,35		0	1	0	0,26	
1	90%	2		0,00	0,00	0	0	0	0	0,09	
1	90%	3		0,00	0,00	0	0	0	0	0,02	0,00
1	90%	4		0,00	0,00	0	0	0	0	0,15	0,01
<b>Média</b>			1,50	0,00	0,09	0,0	0,0	0,3	0,0	0,13	0,01
2	90%	1	0,70	0,20	0,25	3	0	1	0	0,21	
2	90%	2		0,00	0,00	0	0	0	0	0,27	0,06
2	90%	3		0,00	0,00	0	0	0	0	0,19	
2	90%	4		0,00	0,00	0	0	0	0	0,21	
<b>Média</b>			0,70	0,05	0,06	0,8	0,0	0,3	0,0	0,22	0,06
10	90%	1	1,48	0,50	0,20	4	0	4	0	0,07	0,01
10	90%	2		0,00	0,00	0	0	0	0	0,14	
10	90%	3		0,00	0,00	0	0	0	0	0,04	
10	90%	4	3,50	0,70	0,15	6	0	2	0	0,10	
<b>Média</b>			2,49	0,30	0,09	2,5	0,0	1,5	0,0	0,09	0,01
17	90%	1	6,05	1,10	0,20	5	2	6	2	0,56	0,05
17	90%	2	7,13	0,70	0,35	5	5	9	3	0,89	0,07
17	90%	3	9,07	1,00	0,25	10	2	5	0	0,86	0,04
17	90%	4	8,90	1,00	0,20	11	3	5	4	0,51	0,07
<b>Média</b>			7,79	0,95	0,25	7,8	3,0	6,3	2,3	0,71	0,06
18	90%	1	3,38	0,40	0,30		0	6	4	0,78	0,01
18	90%	2	6,93	0,70	0,15	9	3	6	3	0,46	0,02
18	90%	3	5,30	0,60	0,15	8	3	8	3	0,50	0,07
18	90%	4	8,84	1,50	0,25	12	3	8	1	1,13	0,07
<b>Média</b>			6,11	0,80	0,21	9,7	2,3	7,0	2,8	0,72	0,04
20	90%	1	2,15	0,30	0,20	5	0	2	0	0,19	0,03
20	90%	2	3,97	1,00	0,20	12	1	7	0	0,42	0,22
20	90%	3	6,24	1,10	0,20	12	4	11	0	1,08	0,17
20	90%	4	5,60	1,50	0,20	7	2	7	0	0,55	0,03
<b>Média</b>			4,49	0,98	0,20	9,0	1,8	6,8	0,0	0,56	0,11
31	90%	1	1,00	0,50	0,20	2	0	1	0	0,11	
31	90%	2	4,90	1,40	0,20	6	0	2	0		
31	90%	3	3,50	0,50	0,25	5	0	1	0	0,19	0,03
31	90%	4	0,73				0	4	0	0,35	0,05
<b>Média</b>			2,53	0,80	0,22	4,3	0,0	2,0	0,0	0,22	0,04
35	90%	1	0,73	0,10	0,15		0	4	0	0,09	
35	90%	2	4,95	1,50	0,20	8	0	2	0	0,19	
35	90%	3	2,70	0,50	0,20	5	0	1	0	0,24	0,01
35	90%	4	9,17	2,00	0,20	17	1	4	0	0,38	0,05
<b>Média</b>			4,39	1,03	0,19	10,0	0,3	2,8	0,0	0,23	0,03
38	90%	1	1,70	0,40	0,15	5	0	5	0	0,20	0,05
38	90%	2	4,80	2,00	0,20	7	0	5	0	0,46	0,01
38	90%	3		0,00	0,00	0	0	0	0	0,07	0,02
38	90%	4	8,50	1,40	0,15	12	0	4	0	0,54	0,01
<b>Média</b>			5,00	0,95	0,13	6,0	0,0	3,5	0,0	0,32	0,02

Apêndice 1. Continuação...Valores obtidos para as 23 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na primeira avaliação (Abril/2008) sob alta disponibilidade hídrica.

ACESSO	TRAT	REP	CES1	CEN	EEN	NN	NES2	NEStotal	NI	MSF	MSFS
39	90%	1	1,64	1,00	0,20	8	0	5	0	0,15	0,00
39	90%	2	2,68	1,00	0,15	8	0	4	0	0,13	0,00
39	90%	3	2,43	0,50	0,30	4	0	3	0	0,27	0,00
39	90%	4	6,00	1,30	0,20	6	0	1	0	0,09	0,01
<b>Média</b>			3,19	0,95	0,21	6,5	0,0	3,3	0,0	0,16	0,00
41	90%	1	8,24	1,40	0,15	10	6	14	4	0,94	0,03
41	90%	2	8,27	1,00	0,20	10	4	14	2	0,72	0,02
41	90%	3	5,90	1,30	0,20	6	0	4	0	0,33	
41	90%	4	3,76	1,50	0,20	6	4	9	0	0,30	
<b>Média</b>			6,54	1,30	0,19	8,0	3,5	10,3	1,5	0,57	0,02
44	90%	1	5,38	1,20	0,20	12	7	13	0	0,69	0,15
44	90%	2	4,40	0,90	0,20	14	6	11	0	0,63	0,03
44	90%	3	5,93	1,00	0,30	12	2	8	0	0,69	0,07
44	90%	4	8,02	1,10	0,30	14	3	8	0	0,77	0,10
<b>Média</b>			5,93	1,05	0,25	13,0	4,5	10,0	0,0	0,70	0,09
57	90%	1	9,65	2,00	0,15	12	3	9	0	0,86	0,02
57	90%	2	9,40	1,00	0,20	11	0	5	0	0,71	0,01
57	90%	3	7,25	1,60	0,20	13	4	10	0	1,01	0,05
57	90%	4	11,36	1,30	0,30	11	1	8	0	1,16	0,01
<b>Média</b>			9,41	1,48	0,21	11,8	2,0	8,0	0,0	0,93	0,02
67	90%	1		0,00		0	0	0	0	0,10	
67	90%	2	6,83	2,10	0,20	6	0	4	0	0,46	0,01
67	90%	3	6,03	1,20	0,30	6	0	4	0	0,43	
67	90%	4	7,45	1,40	0,30	9	0	2	0	0,23	0,03
<b>Média</b>			6,77	1,18	0,27	5,3	0,0	2,5	0,0	0,30	0,02
74	90%	1	7,56	2,00	0,30	12	3	8	1	1,27	
74	90%	2	3,08	1,10	0,30	7	0	6	1	1,80	0,07
74	90%	3	13,00	1,10	0,40	11	2	4	0	1,36	0,14
74	90%	4	5,88	1,10	0,30	8	2	7	0	1,15	
<b>Média</b>			7,38	1,33	0,33	9,5	1,8	6,3	0,5	1,39	0,10
75	90%	1	6,35	0,70	0,20	9	6	10	0	1,05	0,01
75	90%	2	7,24	2,10	0,25	10	2	7	0	1,14	0,03
75	90%	3	12,13	1,10	0,30	12	2	5	0	1,48	0,02
75	90%	4	12,57	1,20	0,30	12	4	7	0	1,35	0,24
<b>Média</b>			9,57	1,28	0,26	10,8	3,5	7,3	0,0	1,25	0,07
78	90%	1	7,65	1,80	0,20	8	4	8	0	0,87	
78	90%	2	17,20	2,50	0,30	9	3	5	0	0,59	
78	90%	3	6,90	1,00	0,30	7	0	1	0	0,42	
78	90%	4	5,50	2,00	0,20	8	0	5	0	0,38	0,07
<b>Média</b>			9,31	1,83	0,25	8,0	1,8	4,8	0,0	0,56	0,07
79	90%	1	4,30	0,60	0,20	6	0	1	0	0,23	0,03
79	90%	2	6,00	1,50	0,20	6	0	2	0	0,27	0,04
79	90%	3	3,40	1,30	0,20	4	0	3	0	0,16	0,04
79	90%	4		0,00		0	0	0	0	0,10	0,02
<b>Média</b>			4,57	0,85	0,20	4,0	0,0	1,5	0,0	0,19	0,03

Apêndice 1. Continuação...Valores obtidos para as 23 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na primeira avaliação (Abril/2008) sob alta disponibilidade hídrica.

ACESSO	TRAT	REP	MSPA	g	Tr	MSI
1	90%	1	0,264	183,00	4,54	
1	90%	2	0,091	221,00	6,89	
1	90%	3	0,024	174,00	5,45	
1	90%	4	0,146	195,00	6,06	
<b>Média</b>			0,131	193,25	5,74	
2	90%	1	0,211	147,00	3,30	
2	90%	2	0,274	188,00	6,50	
2	90%	3	0,193	136,00	3,40	
2	90%	4	0,213	177,00	5,40	
<b>Média</b>			0,223	162,00	4,65	
10	90%	1	0,069	125,00	3,87	
10	90%	2	0,140	146,00	4,40	
10	90%	3	0,041	147,00	4,50	
10	90%	4	0,095	127,00	3,93	
<b>Média</b>			0,086	136,25	4,18	
17	90%	1	0,562	137,00	3,57	0,04
17	90%	2	0,890	162,00	4,07	0,15
17	90%	3	0,860	145,00	4,68	
17	90%	4	0,514	150,00	4,69	0,18
<b>Média</b>			0,707	148,50	4,25	
18	90%	1	0,782	149,00	3,93	0,13
18	90%	2	0,457	172,00	5,28	0,04
18	90%	3	0,504	145,00	4,26	
18	90%	4	1,183	143,00	4,43	0,06
<b>Média</b>			0,732	152,25	4,48	
20	90%	1	0,186	166,00	4,24	
20	90%	2	0,423	189,00	5,69	
20	90%	3	1,082	175,00	4,39	
20	90%	4	0,548	175,00	4,18	
<b>Média</b>			0,560	176,25	4,63	
31	90%	1	0,107	117,00	2,40	
31	90%	2	0,000	114,00	2,97	
31	90%	3	0,193	123,00	3,04	
31	90%	4	0,351	137,00	3,78	
<b>Média</b>			0,163	122,75	3,05	
35	90%	1	0,093	151,00	4,85	
35	90%	2	0,191	141,00	4,44	
35	90%	3	0,239	148,00	4,92	
35	90%	4	0,417	155,00	4,92	
<b>Média</b>			0,235	148,75	4,78	
38	90%	1	0,197	140,00	3,67	
38	90%	2	0,460	183,00	5,73	
38	90%	3	0,071	171,00	4,47	
38	90%	4	0,539	132,00	3,35	
<b>Média</b>			0,317	156,50	4,31	

Apêndice 1. Continuação...Valores obtidos para as 23 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na primeira avaliação (Abril/2008) sob alta disponibilidade hídrica.

ACESSO	TRAT	REP	MSPA	g	Tr	MSI
39	90%	1	0,147	109,30	3,37	
39	90%	2	0,131	108,00	3,39	
39	90%	3	0,267	127,00	4,01	
39	90%	4	0,089	137,00	4,06	
<b>Média</b>			0,159	120,33	3,71	
41	90%	1	0,955	161,00	3,60	0,08
41	90%	2	0,725	184,00	4,70	0,03
41	90%	3	0,329	155,00	4,63	
41	90%	4	0,295	147,00	4,47	
<b>Média</b>			0,576	161,75	4,35	
44	90%	1	0,696	131,00	3,90	
44	90%	2	0,634	131,00	4,20	
44	90%	3	0,690	133,00	4,03	
44	90%	4	0,784	127,00	3,85	
<b>Média</b>			0,701	130,50	4,00	
57	90%	1	0,943	150,00	4,75	
57	90%	2	0,744	170,00	5,21	
57	90%	3	1,034	145,00	4,55	
57	90%	4	1,240	165,00	5,42	
<b>Média</b>			0,990	157,50	4,98	
67	90%	1	0,103	150,00	3,35	
67	90%	2	0,458	146,00	4,37	
67	90%	3	0,425	165,00	5,38	
67	90%	4	0,233	151,00	4,86	0,03
<b>Média</b>			0,305	153,00	4,49	
74	90%	1	1,364	150,00	3,82	0,05
74	90%	2	1,800	225,00	6,00	
74	90%	3	1,408	178,00	5,63	
74	90%	4	1,149	198,00	5,71	
<b>Média</b>			1,430	187,75	5,29	
75	90%	1	1,090	141,00	3,76	
75	90%	2	1,174	144,00	3,98	
75	90%	3	1,528	145,00	3,87	
75	90%	4	1,394	151,00	4,55	
<b>Média</b>			1,297	145,25	4,04	
78	90%	1	0,884	155,00	3,89	
78	90%	2	0,657	169,00	5,28	
78	90%	3	0,416	166,00	5,13	
78	90%	4	0,381	169,00	4,97	
<b>Média</b>			0,585	164,75	4,82	
79	90%	1	0,230	185,00	5,27	
79	90%	2	0,268	173,00	4,35	
79	90%	3	0,156	179,00	5,33	
79	90%	4	0,095	186,00	6,01	
<b>Média</b>			0,187	180,75	5,24	

Apêndice 2. Valores obtidos para as 23 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na primeira avaliação (Abril/2008) sob déficit hídrico.

ACESSO	TRAT	REP	EST	LAR	HAB	NFV	NFS	CP	CF	LF	AFtot
1	50%	1	8,70	6,00	3,00	3,00	1,00	7,90	1,70	1,20	8,03
1	50%	2	9,00	14,00	3,00	4,00	3,00	13,50	1,50	1,30	11,83
1	50%	3	7,80	4,50	3,00	5,00	3,00	7,00	1,10	0,90	6,31
1	50%	4	16,30	12,00	3,00	6,00	5,00	16,00	1,60	1,30	24,31
<b>Média</b>			10,45	9,13	3,00	4,50	3,00	11,10	1,48	1,18	12,62
2	50%	1	8,00	18,00	2,00	2,00	3,00	12,90	1,50	1,20	5,58
2	50%	2	7,20	3,20	3,00	2,00	3,00	6,80	1,40	1,10	5,35
2	50%	3	4,00	2,00	3,00	1,00	3,00	4,00	1,10	1,00	2,01
2	50%	4	4,50	2,00	3,00	2,00	6,00	3,50	1,20	1,00	3,16
<b>Média</b>			5,93	6,30	2,75	1,75	3,75	6,80	1,30	1,08	4,03
10	50%	1	12,70	5,00	3,00	5,00	4,00	11,00	1,70	1,30	13,61
10	50%	2	8,50	4,00	3,00	2,00	4,00	7,70	1,40	1,30	5,09
10	50%	3	10,00	7,20	3,00	3,00	3,00	11,50	1,30	1,10	8,36
10	50%	4	4,80	5,00	3,00	7,00	3,00	4,30	0,60	0,60	5,26
<b>Média</b>			9,00	5,30	3,00	4,25	3,50	8,63	1,25	1,08	8,08
17	50%	1	9,20	10,00	2,00	14,00	7,00	11,00	1,50	1,30	29,40
17	50%	2	7,40	14,50	2,00	15,00	21,00	9,20	1,80	0,90	38,83
17	50%	3	9,30	10,00	3,00	14,00	18,00	7,40	1,60	1,30	36,81
17	50%	4	10,00	19,00	2,00	28,00	17,00	10,40	1,50	1,30	71,60
<b>Média</b>			8,98	13,38	2,25	17,75	15,75	9,50	1,60	1,20	44,16
18	50%	1	10,50	8,00	3,00	6,00	16,00	8,50	1,40	1,20	13,07
18	50%	2	9,60	13,00	2,00	13,00	20,00	8,00	1,60	1,10	28,74
18	50%	3	11,00	27,00	2,00	19,00	17,00	10,70	1,60	1,10	47,90
18	50%	4	7,90	19,50	2,00	19,00	14,00	11,50	1,70	1,60	59,72
<b>Média</b>			9,75	16,88	2,25	14,25	16,75	9,68	1,58	1,25	37,36
20	50%	1	8,50	13,70	2,00	25,00	5,00	8,10	1,60	1,10	51,37
20	50%	2	8,20	16,80	2,00	5,00	12,00	9,20	1,50	1,40	12,13
20	50%	3	6,50	11,00	2,00	11,00	16,00	6,40	1,40	1,10	18,99
20	50%	4	9,50	16,50	2,00	18,00	3,00	9,90	1,20	1,20	40,48
<b>Média</b>			8,18	14,50	2,00	14,75	9,00	8,40	1,43	1,20	30,74
31	50%	1	11,80	7,50	3,00	3,00	8,00	10,50	1,50	1,10	9,85
31	50%	2	14,50	9,00	3,00	9,00	7,00	3,50	1,50	1,10	17,27
31	50%	3	9,60	6,90	3,00	7,00	9,00	10,00	1,60	1,30	16,67
31	50%	4	12,00	7,80	3,00	4,00	9,00	9,80	1,80	1,40	16,47
<b>Média</b>			11,98	7,80	3,00	5,75	8,25	8,45	1,60	1,23	15,07
35	50%	1									
35	50%	2	6,20	9,60	3,00	9,00	7,00	6,40	1,00	0,90	
35	50%	3	6,20	7,50	3,00	16,00	7,00	5,40	1,00	0,90	21,86
35	50%	4	6,90	5,00	3,00	4,00	2,00	7,00	0,70	0,70	3,35
<b>Média</b>			6,43	7,37	3,00	9,67	5,33	6,27	0,90	0,83	12,61
38	50%	1	7,40	9,00	2,00	6,00	10,00	7,00	1,00	0,90	8,31
38	50%	2	5,50	9,40	3,00	10,00	3,00	5,40	1,20	1,10	15,46
38	50%	3	6,50	7,20	3,00	12,00	4,00	6,50	1,00	0,60	17,53
38	50%	4	4,50	14,50	1,00	12,00	4,00	8,00	1,50	1,10	22,90
<b>Média</b>			5,98	10,03	2,25	10,00	5,25	6,73	1,18	0,93	16,05

Apêndice 2. Continuação...Valores obtidos para as 23 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na primeira avaliação (Abril/2008) sob déficit hídrico.

ACESSO	TRAT	REP	EST	LAR	HAB	NFV	NFS	CP	CF	LF	AFtot
39	50%	1	3,90	6,00	3,00	17,00	6,00	4,00	0,50	0,50	9,32
39	50%	2	5,20	4,30	3,00	5,00	6,00	4,10	1,00	0,90	4,11
39	50%	3	5,00	7,50	3,00	4,00	6,00	5,00	1,00	0,80	2,78
39	50%	4	4,50	5,80	3,00	8,00	4,00	4,50	0,90	0,90	8,72
<b>Média</b>			4,65	5,90	3,00	8,50	5,50	4,40	0,85	0,78	6,23
41	50%	1	6,10	15,00	2,00	17,00	11,00	4,30	1,10	0,80	27,07
41	50%	2	7,70	22,00	1,00	25,00	14,00	6,00	1,20	1,20	43,86
41	50%	3	6,20	17,50	1,00	29,00	21,00	5,40	1,00	0,80	36,68
41	50%	4	3,60	24,50	1,00	29,00	17,00	5,50	0,70	0,60	33,05
<b>Média</b>			5,90	19,75	1,25	25,00	15,75	5,30	1,00	0,85	35,17
44	50%	1	5,00	11,00	2,00	23,00	8,00	4,50	0,90	0,90	30,14
44	50%	2	4,70	15,50	1,00	52,00	36,00	4,20	1,10	1,00	51,38
44	50%	3	7,30	18,70	1,00	31,00	19,00	6,90	1,20	1,00	71,89
44	50%	4	6,00	20,00	1,00	26,00	30,00	7,00	1,20	1,00	37,23
<b>Média</b>			5,75	16,30	1,25	33,00	23,25	5,65	1,10	0,98	47,66
57	50%	1	7,00	14,40	2,00	20,00	19,00	5,00	1,30	0,90	27,05
57	50%	2	7,90	16,50	1,00	24,00	25,00	5,80	1,30	1,10	42,00
57	50%	3	5,50	12,50	2,00	10,00	16,00	4,80	1,00	0,80	13,98
57	50%	4	7,20	21,10	2,00	17,00	19,00	7,50	1,20	1,00	27,75
<b>Média</b>			6,90	16,13	1,75	17,75	19,75	5,78	1,20	0,95	27,70
67	50%	1	6,00	6,20	3,00	6,00	4,00	5,90	1,50	0,90	10,17
67	50%	2	4,70	3,00	3,00	2,00	4,00	4,00	1,20	1,00	3,01
67	50%	3	5,00	9,00	3,00	7,00	4,00	8,00	1,10	1,00	11,26
67	50%	4	9,00	12,00	2,00	10,00	11,00	9,90	1,50	1,50	30,86
<b>Média</b>			6,18	7,55	2,75	6,25	5,75	6,95	1,33	1,10	13,83
74	50%	1	8,70	8,50	3,00	12,00	13,00	7,10	1,60	1,20	29,84
74	50%	2	9,60	12,80	3,00	6,00	12,00	7,50	1,90	1,70	24,13
74	50%	3	9,50	12,00	2,00	9,00	23,00	8,40	1,50	1,30	22,65
74	50%	4	13,70	32,00	2,00	23,00	29,00	12,50	1,60	1,30	78,59
<b>Média</b>			10,38	16,33	2,50	12,50	19,25	8,88	1,65	1,38	38,80
75	50%	1	8,90	17,80	2,00	15,00	9,00	9,70	1,40	0,90	29,34
75	50%	2	8,00	23,00	1,00	8,00	18,00	10,00	1,40	1,40	23,18
75	50%	3	8,00	27,00	2,00	25,00	19,00	9,20	1,40	1,20	75,33
75	50%	4	11,50	16,00	2,00	13,00	16,00	9,40	1,70	1,10	56,10
<b>Média</b>			9,10	20,95	1,75	15,25	15,50	9,58	1,48	1,15	45,99
78	50%	1	6,30	8,80	3,00	17,00	11,00	5,40	1,10	1,00	41,00
78	50%	2	7,80	7,60	2,00	11,00	14,00	5,20	1,30	1,30	18,82
78	50%	3	9,30	22,30	1,00	14,00	18,00	11,00	1,60	1,20	33,02
78	50%	4	5,00	22,00	1,00	28,00	21,00	5,20	0,90	0,90	44,18
<b>Média</b>			7,10	15,18	1,75	17,50	16,00	6,70	1,23	1,10	34,26
79	50%	1	7,90	6,50	3,00	10,00	4,00	7,50	1,00	1,00	11,41
79	50%	2	7,50	6,00	3,00	6,00	5,00	6,90	1,10	0,80	8,62
79	50%	3	7,00	6,50	3,00	5,00	6,00	7,20	1,10	1,00	7,57
79	50%	4	7,30	14,00	2,00	12,00	11,00	7,50	1,40	1,10	26,35
<b>Média</b>			7,43	8,25	2,75	8,25	6,50	7,28	1,15	0,98	13,49



Apêndice 2. Continuação...Valores obtidos para as 23 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na primeira avaliação (Abril/2008) sob déficit hídrico.

ACESSO	TRAT	REP	AF1fol	NES1	CES primários					CES1	CEN	EEN
1	50%	1	6,12									
1	50%	2	5,85									
1	50%	3	2,97									
1	50%	4	6,24									
<b>Média</b>			5,30									
2	50%	1	5,40									
2	50%	2	4,62									
2	50%	3	3,30									
2	50%	4	3,60									
<b>Média</b>			4,23									
10	50%	1	6,63									
10	50%	2	5,46									
10	50%	3	4,29									
10	50%	4	1,08									
<b>Média</b>			4,37									
17	50%	1	5,85	2	4,1	5,0				4,55	1,50	0,30
17	50%	2	4,86	4	2,7	3,0	5,9	1,6		3,30	0,70	0,30
17	50%	3	6,24	3	5,5	2,7	2,1			3,43	0,60	0,30
17	50%	4	5,85	3	2,7	1,8	2,5			2,33	0,30	0,30
<b>Média</b>			5,70	3,0						3,40	0,78	0,30
18	50%	1	5,04	2	2,3	1,7				2,00	0,20	0,30
18	50%	2	5,28	3	3,3	4,0	6,7			4,67	1,40	0,30
18	50%	3	5,28	3	4,5	2,3	6,0			4,27	0,70	0,30
18	50%	4	8,16	3	6,0	4,6	1,1			3,90	1,00	0,30
<b>Média</b>			5,94	2,8						3,71	0,83	0,30
20	50%	1	5,28	1	5,7					5,70	1,10	0,30
20	50%	2	6,30	2	9,1	2,0				5,55	0,70	0,30
20	50%	3	4,62	4	3,0	0,3	2,4	1,4		1,78	0,50	0,30
20	50%	4	4,32	3	1,6	3,1	2,0			2,23	0,50	0,20
<b>Média</b>			5,13	2,5						3,81	0,70	0,28
31	50%	1	4,95									
31	50%	2	4,95	1	1,5					1,50	0,20	0,20
31	50%	3	6,24	3	1,3	0,6	0,4			0,77	0,30	0,30
31	50%	4	7,56	1	2,4					2,40	0,60	0,30
<b>Média</b>			5,93	1,7						1,56	0,37	0,27
35	50%	1										
35	50%	2	2,70									
35	50%	3	2,70									
35	50%	4	1,47									
<b>Média</b>			2,29									
38	50%	1	2,70	2	2,4	2,2				2,30	0,40	0,20
38	50%	2	3,96	4	0,7	0,9	1,5	1,1		1,05	0,20	0,20
38	50%	3	1,80	3	2,0	1,5	1,2			1,57	0,40	0,30
38	50%	4	4,95	2	2,5	1,4				1,95	0,60	0,20
<b>Média</b>			3,35	2,8						1,72	0,40	0,23

Apêndice 2. Continuação...Valores obtidos para as 23 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na primeira avaliação (Abril/2008) sob déficit hídrico.

ACESSO	TRAT	REP	AF1fol	NES1	CES primários						CES1	CEN	EEN
39	50%	1	0,75	3	2,0	0,9	0,6				1,17	0,20	0,20
39	50%	2	2,70										
39	50%	3	2,40										
39	50%	4	2,43	1	2,2						2,20	0,20	1,00
<b>Média</b>			2,07	2,0							1,68	0,20	0,60
41	50%	1	2,64	5	7,5	2,7	4,3	1,3	3,6		3,88	0,90	0,20
41	50%	2	4,32	4	9,2	2,0	2,0	11,1			6,08	1,00	0,30
41	50%	3	2,40	3	5,5	20,7	3,9				10,03	1,60	0,20
41	50%	4	1,26	5	3,0	20,1	7,2	4,0	14,0		9,66	1,00	0,20
<b>Média</b>			2,66	4,3							7,41	1,13	0,23
44	50%	1	2,43	6	3,3	1,1	4,5	1,3	3,3	2,9	2,73	0,40	0,30
44	50%	2	3,30	3	5,0	5,5	6,5				5,67	0,60	0,30
44	50%	3	3,60	2	7,5	8,0					7,75	0,70	0,20
44	50%	4	3,60	3	9,0	7,0	6,5				7,50	0,80	0,20
<b>Média</b>			3,23	3,5							5,91	0,63	0,25
57	50%	1	3,51	5	5,3	2,1	2,2	7,0	3,7		4,06	0,80	0,30
57	50%	2	4,29	6	9,8	5,3	6,5	1,6	1,2	5,3	4,95	1,00	0,20
57	50%	3	2,40	4	6,5	4,5	1,0	2,0			3,50	0,80	0,20
57	50%	4	3,60	4	9,0	5,9	1,7	11,8			7,10	1,80	0,20
<b>Média</b>			3,45	4,8							4,90	1,10	0,23
67	50%	1	4,05	2	1,0	1,0					1,00	0,10	0,30
67	50%	2	3,60										
67	50%	3	3,30										
67	50%	4	6,75	2	2,5	1,7					2,10	0,30	0,30
<b>Média</b>			4,43	2,0							1,55	0,20	0,30
74	50%	1	5,76	3	1,0	2,3	2,5				1,93	0,30	0,30
74	50%	2	9,69										
74	50%	3	5,85	4	1,2	7,4	6,9	0,9			4,10	1,20	0,30
74	50%	4	6,24	3	6,0	8,2	20,6				11,60	1,10	4,00
<b>Média</b>			6,89	3,3							5,88	0,87	1,53
75	50%	1	3,78	4	5,5	5,0	7,7	2,0			5,05	2,10	0,20
75	50%	2	5,88	3	7,0	5,8	3,2				5,33	0,80	0,30
75	50%	3	5,04	4	3,2	5,5	2,0	8,1			4,70	0,80	0,30
75	50%	4	5,61	2	1,5	6,0					3,75	1,00	0,30
<b>Média</b>			5,08	3,3							4,71	1,18	0,28
78	50%	1	3,30	3	2,5	1,4	1,5				1,80	0,20	0,30
78	50%	2	5,07	5	3,1	3,6	1,7	3,0	2,9		2,86	1,00	0,30
78	50%	3	5,76	3	5,5	6,9	1,2				4,53	1,30	0,30
78	50%	4	2,43	6	8,6	1,5	2,9	8,0	0,9	0,7	3,77	0,90	0,30
<b>Média</b>			4,14	4,3							3,24	0,85	0,30
79	50%	1	3,00	2	2,2	1,4					1,80	0,50	0,30
79	50%	2	2,64										
79	50%	3	3,30										
79	50%	4	4,62	2	2,2	5,0					3,60	0,70	0,30
<b>Média</b>			3,39	2,0							2,70	0,60	0,30

Apêndice 2. Continuação...Valores obtidos para as 23 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na primeira avaliação (Abril/2008) sob déficit hídrico.

ACESSO	TRAT	REP	NN	NES2	NEStotal	NI	MSF	MSFS	MSPA	g	Tr
1	50%	1			0	0	0,04	0,01	0,038	34,70	1,39
1	50%	2			0	0	0,08	0,02	0,078	47,10	2,35
1	50%	3			0	0	0,03	0,01	0,027	70,30	3,04
1	50%	4			0	0	0,16	0,03	0,164	36,40	1,51
<b>Média</b>					0,0	0,0	0,08	0,02	0,077	47,13	2,07
2	50%	1			0	0	0,06	0,03	0,056	37,30	1,97
2	50%	2			0	0	0,03	0,01	0,028	52,40	2,31
2	50%	3			0	0	0,01	0,03	0,007	60,70	2,51
2	50%	4			0	0	0,02	0,04	0,016	51,20	2,13
<b>Média</b>					0,0	0,0	0,03	0,03	0,027	50,40	2,23
10	50%	1			0	0		0,03	0,000	42,60	1,95
10	50%	2			0	0	0,03	0,01	0,026	54,90	2,99
10	50%	3			0	0	0,05		0,048	29,50	1,25
10	50%	4			0	0	0,02		0,019	62,70	2,49
<b>Média</b>					0,0	0,0	0,03	0,02	0,023	47,43	2,17
17	50%	1	7	1	3	0	0,17	0,10	0,171	46,30	1,58
17	50%	2	8		4	0	0,22	0,12	0,222	65,70	3,52
17	50%	3	8		3	0	0,16	0,12	0,162	63,40	3,17
17	50%	4	6	4	7	0	0,32	0,08	0,319	54,00	2,08
<b>Média</b>			7,3	2,5	4,3	0,0	0,22	0,10	0,219	57,35	2,59
18	50%	1	8	1	3	0	0,08	0,07	0,076	23,40	1,07
18	50%	2	7		3	0	0,35	0,13	0,350	35,30	1,32
18	50%	3	8		3	0	0,27	0,16	0,274	35,60	1,54
18	50%	4	7	3	6	0	0,28	0,10	0,279	56,20	2,1
<b>Média</b>			7,5	2,0	3,8	0,0	0,24	0,11	0,245	37,63	1,51
20	50%	1	10	2	3	0	0,30	0,08	0,296	44,50	1,59
20	50%	2			2	0	0,07	0,10	0,067	66,50	2,87
20	50%	3	6		4	0	0,10	0,09	0,095	67,30	2,65
20	50%	4			3	0	0,19		0,188	52,70	2,21
<b>Média</b>			8,0	2,0	3,0	0,0	0,16	0,09	0,162	57,75	2,33
31	50%	1			0	0	0,06	0,09	0,059	40,30	1,80
31	50%	2	3		1	0	0,19		0,186	56,90	3,07
31	50%	3	5		3	0	0,10	0,04	0,095	43,30	1,93
31	50%	4	4		1	0	0,08	0,07	0,077	32,70	1,40
<b>Média</b>			4,0		1,3	0,0	0,10	0,07	0,104	43,30	2,05
35	50%	1									
35	50%	2			0	0			0,000	42,70	2,33
35	50%	3			0	0	0,07	0,01	0,066	62,40	2,23
35	50%	4			0	0	0,02		0,018	39,70	1,93
<b>Média</b>					0,0	0,0	0,04	0,01	0,028	48,27	2,16
38	50%	1	6		2	0	0,04	0,04	0,042	47,20	2,21
38	50%	2	5		4	0	0,09	0,02	0,093	37,40	1,62
38	50%	3	5		3	0	0,10	0,03	0,099	54,30	1,79
38	50%	4	4		2	0	0,13		0,125	62,50	2,72
<b>Média</b>			5,0		2,8	0,0	0,09	0,03	0,090	50,35	2,09

Apêndice 2. Continuação...Valores obtidos para as 23 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na primeira avaliação (Abril/2008) sob déficit hídrico.

ACESSO	TRAT	REP	NN	NES2	NEStotal	NI	MSF	MSFS	MSPA	g	Tr
39	50%	1	6		3	0	0,06	0,02	0,063	42,10	1,52
39	50%	2			0	0	0,02		0,023	31,20	1,39
39	50%	3			0	0	0,02	0,02	0,018	53,20	2,31
39	50%	4	5		1	0	0,03		0,033	62,50	2,47
<b>Média</b>			5,5		1,0	0,0	0,03	0,02	0,034	47,25	1,92
41	50%	1	7		5	0	0,15	0,09	0,148	40,30	1,62
41	50%	2	13	2	6	2		0,11	0,000	67,10	2,79
41	50%	3	9	2	5	0	0,15	0,01	0,153	38,60	1,71
41	50%	4	11		5	0	0,20	0,02	0,203	40,10	1,20
<b>Média</b>			10,0	2,0	5,3	0,5	0,17	0,06	0,126	46,53	1,83
44	50%	1	10		6	0	0,16	0,05	0,158	31,10	1,41
44	50%	2	15	4	7	0	0,33	0,17	0,334	46,20	2,33
44	50%	3	11	9	11	0	0,29	0,13	0,290	68,00	2,70
44	50%	4	9	7	10	0	0,20	0,27	0,200	50,70	2,02
<b>Média</b>			11,3	6,7	8,5	0,0	0,25	0,15	0,246	49,00	2,12
57	50%	1	10		5	0	0,13	0,10	0,128	37,60	1,67
57	50%	2	8		6	0	0,25	0,13	0,250	45,30	1,67
57	50%	3			4	0	0,61	0,05	0,610	37,20	1,51
57	50%	4	7		4	0	0,17	0,13	0,165	49,70	1,71
<b>Média</b>			8,3		4,8	0,0	0,29	0,10	0,288	42,45	1,64
67	50%	1	4		2	0	0,13	0,04	0,126	47,00	2,01
67	50%	2			0	0	0,02	0,03	0,017	33,70	1,39
67	50%	3			0	0	0,05	0,02	0,050	49,80	1,99
67	50%	4	5		2	0	0,19	0,08	0,194	31,20	1,27
<b>Média</b>			4,5		1,0	0,0	0,10	0,04	0,097	40,43	1,67
74	50%	1	5		3	0	0,16	0,11	0,158	37,20	1,71
74	50%	2			0	0	0,15	0,11	0,153	52,70	3,15
74	50%	3	7		4	0	0,15	0,30	0,147	58,30	2,79
74	50%	4	9	4	7	0	0,47	0,34	0,471	61,50	2,41
<b>Média</b>			7,0	4,0	3,5	0,0	0,23	0,22	0,232	52,43	2,52
75	50%	1	2	2	6	0	0,17	0,12	0,171	39,80	1,55
75	50%	2			3	0	0,12	0,13	0,122	52,30	2,07
75	50%	3			4	0	0,53	0,18	0,531	50,30	2,08
75	50%	4			2	0	0,29	0,11	0,290	48,80	1,88
<b>Média</b>			2,0	2,0	3,8	0,0	0,28	0,13	0,279	47,80	1,90
78	50%	1			3	0	0,23	0,04	0,227	41,70	2,13
78	50%	2			5	0	0,11	0,08	0,110	32,70	1,46
78	50%	3	1	1	4	0	0,25	0,06	0,246	34,10	1,47
78	50%	4	2	2	8	0	0,30	0,09	0,299	43,40	1,72
<b>Média</b>			1,5	1,5	5,0	0,0	0,22	0,07	0,221	37,98	1,70
79	50%	1			2	0	0,08	0,03	0,082	32,70	1,37
79	50%	2			0	0	0,03	0,03	0,028	44,80	2,09
79	50%	3			0	0	0,05	0,01	0,052	56,80	2,28
79	50%	4			2	0	0,14	0,05	0,138	57,10	2,01
<b>Média</b>					1,0	0,0	0,08	0,03	0,075	47,85	1,94

Apêndice 3. Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a primeira avaliação (Abril/2008).

The GLM Procedure  
Class Level Information

Class	Levels	Values
AC	18	1 2 10 17 18 20 31 35 38 39 41 44 57 67 74 75 78 79
TRAT	2	0.5 0.9
REP	4	1 2 3 4

Number of observations 144  
Dependent Variables With Equivalent  
Missing Value Patterns

Pattern	Obs	Dependent Variables
1	143	EST LAR HAB NFV NFS CP CF LF NES1 NES2 NI g Tr
2	139	MSF
3	113	MSFS
4	142	AFtot
5	144	CES1médio
6	18	MSE
7	139	NN
8	107	CEN
9	108	EEN
10	11	MSI

Dependent Variable: EST

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	1662.379977	47.496571	10.77	<.0001
Error	107	471.716667	4.408567		
Corrected Total	142	2134.096643			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	EST Mean
0.778962	20.47959	2.099659	10.25245

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	686.3721133	40.3748302	9.16	<.0001
TRAT	1	853.8426911	853.8426911	193.68	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>124.8551133</b>	<b>7.3444184</b>	<b>1.67</b>	<b>0.0606</b>

Apêndice 3. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a primeira avaliação (Abril/2008).

Dependent Variable: LAR

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	8666.26786	247.60765	7.03	<.0001
Error	107	3769.86417	35.23238		
Corrected Total	142	12436.13203			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	LAR Mean
0.696862	34.05019	5.935687	17.43217

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>4325.480113</b>	<b>254.440007</b>	<b>7.22</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>4018.710466</b>	<b>4018.710466</b>	<b>114.06</b>	<b>&lt;.0001</b>
AC*TRAT	17	371.211153	21.835950	0.62	0.8698

Dependent Variable: HAB

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	37.18706294	1.06248751	4.10	<.0001
Error	107	27.75000000	0.25934579		
Corrected Total	142	64.93706294			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	HAB Mean
0.572663	22.61621	0.509260	2.251748

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>31.08800000</b>	<b>1.82870588</b>	<b>7.05</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>1.16284404</b>	<b>1.16284404</b>	<b>4.48</b>	<b>0.0365</b>
AC*TRAT	17	5.17200000	0.30423529	1.17	0.2988

Apêndice 3. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a primeira avaliação (Abril/2008).

Dependent Variable: NFV

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	60711.31235	1734.60892	12.37	<.0001
Error	107	15001.66667	140.20249		
Corrected Total	142	75712.97902			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NFV Mean
0.801861	49.09313	11.84071	24.11888

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	31970.11533	1880.59502	13.41	<.0001
TRAT	1	18626.98471	18626.98471	132.86	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>10068.78333</b>	<b>592.28137</b>	<b>4.22</b>	<b>&lt;.0001</b>

Dependent Variable: NFS

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	5758.613054	164.531802	8.51	<.0001
Error	107	2069.666667	19.342679		
Corrected Total	142	7828.279720			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NFS Mean
0.735617	59.44409	4.398031	7.398601

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	2498.955333	146.997373	7.60	<.0001
TRAT	1	1855.782875	1855.782875	95.94	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>1370.671333</b>	<b>80.627725</b>	<b>4.17</b>	<b>&lt;.0001</b>

Apêndice 3. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a primeira avaliação (Abril/2008).

Dependent Variable: CP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	1455.166900	41.576197	6.97	<.0001
Error	107	638.006667	5.962679		
Corrected Total	142	2093.173566			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CP Mean
0.695196	24.52838	2.441860	9.955245

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>545.9334133</b>	<b>32.1137302</b>	<b>5.39</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>802.6033333</b>	<b>802.6033333</b>	<b>134.60</b>	<b>&lt;.0001</b>
AC*TRAT	17	110.2258533	6.4838737	1.09	0.3754

Dependent Variable: CF

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	9.94222028	0.28406344	5.00	<.0001
Error	107	6.07750000	0.05679907		
Corrected Total	142	16.01972028			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CF Mean
0.620624	17.00626	0.238326	1.401399

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>7.27602000</b>	<b>0.42800118</b>	<b>7.54</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>1.56887615</b>	<b>1.56887615</b>	<b>27.62</b>	<b>&lt;.0001</b>
AC*TRAT	17	1.19902000	0.07053059	1.24	0.2457



Apêndice 3. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a primeira avaliação (Abril/2008).

Dependent Variable: LF

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	8.86261218	0.25321749	6.53	<.0001
Error	107	4.14854167	0.03877142		
Corrected Total	142	13.01115385			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	LF Mean
0.681155	15.94866	0.196905	1.234615

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	3.99897833	0.23523402	6.07	<.0001
TRAT	1	3.87027714	3.87027714	99.82	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>1.08057833</b>	<b>0.06356343</b>	<b>1.64</b>	<b>0.0667</b>

Dependent Variable: NES1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	455.8636364	13.0246753	7.09	<.0001
Error	107	196.5000000	1.8364486		
Corrected Total	142	652.3636364			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NES1 Mean
0.698788	49.68906	1.355156	2.727273

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>370.3000000</b>	<b>21.7823529</b>	<b>11.86</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>53.2844037</b>	<b>53.2844037</b>	<b>29.01</b>	<b>&lt;.0001</b>
AC*TRAT	17	36.2520000	2.1324706	1.16	0.3088

Apêndice 3. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a primeira avaliação (Abril/2008).

Dependent Variable: NES2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	271.7220280	7.7634865	4.51	<.0001
Error	107	184.2500000	1.7219626		
Corrected Total	142	455.9720280			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NESsec Mean
0.595918	133.0849	1.312236	0.986014

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>217.2220000</b>	<b>12.7777647</b>	<b>7.42</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>19.3279817</b>	<b>19.3279817</b>	<b>11.22</b>	<b>0.0011</b>
AC*TRAT	17	35.0500000	2.0617647	1.20	0.2792

Dependent Variable: NI

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	55.20629371	1.57732268	5.92	<.0001
Error	107	28.50000000	0.26635514		
Corrected Total	142	83.70629371			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NI Mean
0.659524	246.0058	0.516096	0.209790

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	27.45000000	1.61470588	6.06	<.0001
TRAT	1	4.65137615	4.65137615	17.46	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>23.01800000</b>	<b>1.35400000</b>	<b>5.08</b>	<b>&lt;.0001</b>

Apêndice 3. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a primeira avaliação (Abril/2008).

Dependent Variable: g

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	449286.1531	12836.7472	71.99	<.0001
Error	107	19080.0967	178.3187		
Corrected Total	142	468366.2498			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	g Mean
0.959262	13.12488	13.35360	101.7427

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	16965.0278	997.9428	5.60	<.0001
TRAT	1	417243.8914	417243.8914	2339.88	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>14027.2963</b>	<b>825.1351</b>	<b>4.63</b>	<b>&lt;.0001</b>

Dependent Variable: Tr

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	251.5216202	7.1863320	17.41	<.0001
Error	107	44.1754917	0.4128551		
Corrected Total	142	295.6971119			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Tr Mean
0.850606	19.66167	0.642538	3.267972

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	16.4789033	0.9693473	2.35	0.0043
TRAT	1	218.4911836	218.4911836	529.22	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>15.6821533</b>	<b>0.9224796</b>	<b>2.23</b>	<b>0.0068</b>

Apêndice 3. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a primeira avaliação (Abril/2008).

Dependent Variable: MSF

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	15.20532518	0.43443786	17.00	<.0001
Error	103	2.63276250	0.02556080		
Corrected Total	138	17.83808768			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	MSF Mean
0.852408	47.26682	0.159877	0.338245

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	7.21260296	0.42427076	16.60	<.0001
TRAT	1	4.59986424	4.59986424	179.96	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>3.14217631</b>	<b>0.18483390</b>	<b>7.23</b>	<b>&lt;.0001</b>

Dependent Variable: MSFS

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	0.27397046	0.00782773	3.39	<.0001
Error	77	0.17760567	0.00230657		
Corrected Total	112	0.45157612			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	MSFS Mean
0.606698	74.61874	0.048027	0.064363

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>0.17060067</b>	<b>0.01003533</b>	<b>4.35</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>0.01783748</b>	<b>0.01783748</b>	<b>7.73</b>	<b>0.0068</b>
AC*TRAT	17	0.03543861	0.00208462	0.90	0.5719

Apêndice 3. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a primeira avaliação (Abril/2008).

Dependent Variable: AFtot

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	653461.2540	18670.3215	17.21	<.0001
Error	106	114963.1689	1084.5582		
Corrected Total	n 141	768424.4229			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	AFtot Mean
0.850391	48.87368	32.93263	67.38317

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	267190.4786	15717.0870	14.49	<.0001
TRAT	1	246750.3893	246750.3893	227.51	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>134506.0181</b>	<b>7912.1187</b>	<b>7.30</b>	<b>&lt;.0001</b>

Dependent Variable: CES1médio

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	1162.548605	33.215674	6.27	<.0001
Error	108	572.484296	5.300781		
Corrected Total	143	1735.032900			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CES1 médio Mean
0.670044	60.03763	2.302342	3.834832

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>820.2132757</b>	<b>48.2478397</b>	<b>9.10</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>208.6319446</b>	<b>208.6319446</b>	<b>39.36</b>	<b>&lt;.0001</b>
AC*TRAT	17	133.7033844	7.8649050	1.48	0.1143

Apêndice 3. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a primeira avaliação (Abril/2008).

Dependent Variable: NN

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	2136.954436	61.055841	9.12	<.0001
Error	103	689.333333	6.692557		
Corrected Total	138	2826.287770			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NN Mean
0.756099	48.20277	2.586998	5.366906

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	1404.036107	82.590359	12.34	<.0001
TRAT	1	395.150442	395.150442	59.04	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>342.924620</b>	<b>20.172036</b>	<b>3.01</b>	<b>0.0003</b>

Dependent Variable: CEN

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	30	14.23968069	0.47465602	2.27	0.0022
Error	76	15.87583333	0.20889254		
Corrected Total	106	30.11551402			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CEN Mean
0.472835	47.25034	0.457048	0.967290

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>16</b>	<b>7.22426423</b>	<b>0.45151651</b>	<b>2.16</b>	<b>0.0135</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>5.74306397</b>	<b>5.74306397</b>	<b>27.49</b>	<b>&lt;.0001</b>
AC*TRAT	13	3.05845506	0.23526577	1.13	0.3511

Apêndice 3. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a primeira avaliação (Abril/2008).

Dependent Variable: EEN

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	31	5.22601852	0.16858124	1.33	0.1559
Error	76	9.60583333	0.12639254		
Corrected Total	107	14.83185185			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	EEN Mean
0.352351	123.8576	0.355517	0.287037

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	3.11861827	0.18344813	1.45	0.1371
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>0.56683712</b>	<b>0.56683712</b>	<b>4.48</b>	<b>0.0375</b>
AC*TRAT	13	2.24841978	0.17295537	1.37	0.1946

Dependent Variable: MSPA

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	16.61457873	0.47470225	18.24	<.0001
Error	107	2.78487500	0.02602687		
Corrected Total	142	19.39945373			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	MSPA Mean
0.856446	48.28373	0.161328	0.334126

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ACESSO	17	7.95145331	0.46773255	17.97	<.0001
TRAT	1	5.10712525	5.10712525	196.23	<.0001
<b>ACESSO*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>3.54700380</b>	<b>0.20864728</b>	<b>8.02</b>	<b>&lt;.0001</b>

Apêndice 3. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a primeira avaliação (Abril/2008).

Dependent Variable: NEStotal

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	1184.494755	33.842707	9.56	<.0001
Error	107	378.750000	3.539720		
Corrected Total	142	1563.244755			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NEStotal Mean
0.757715	50.66709	1.881414	3.713287

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>ACESSO</b>	<b>17</b>	<b>982.1520000</b>	<b>57.7736471</b>	<b>16.32</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>136.7958716</b>	<b>136.7958716</b>	<b>38.65</b>	<b>&lt;.0001</b>
ACESSO*TRAT	17	71.6320000	4.2136471	1.19	0.2847

Dependent Variable: AF1folha

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	595.6728226	17.0192235	6.63	<.0001
Error	107	274.7888250	2.5681199		
Corrected Total	142	870.4616476			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	AF1folha Mean
0.684318	29.42622	1.602535	5.445944

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ACESSO	17	336.4316175	19.7900951	7.71	<.0001
TRAT	1	177.5587817	177.5587817	69.14	<.0001
<b>ACESSO*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>86.3511123</b>	<b>5.0794772</b>	<b>1.98</b>	<b>0.0188</b>



Apêndice 4. Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob alta disponibilidade hídrica.

ACESSO	TRAT	REP	EST	LAR	HAB	NFV	NFS	CP	EP	CF	LF	NES1
1	90%	1	16,50	31,80	3	36,00	1,00	17,00	0,20	2,20	1,85	4
1	90%	2	18,90	33,10	3	28,00	0,00	19,10	0,12	1,80	1,90	7
1	90%	3	15,00	16,00	3	7,00	0,00	17,60	0,15	1,55	1,70	1
1	90%	4	13,20	34,50	3	13,00	0,00	19,60	0,12	1,80	1,70	2
<b>Média</b>			15,90	28,85	3,00	21,00	0,25	18,33	0,15	1,84	1,79	3,50
2	90%	1	11,20	25,00	2	33,00	0,00	12,00	0,12	2,10	1,70	4
2	90%	2	11,50	31,00	3	24,00	0,00	16,30	0,15	2,90	2,15	6
2	90%	3	15,10	36,60	2	19,00	0,00	20,10	0,10	1,85	1,85	6
2	90%	4	13,80	21,00	2	41,00	0,00	12,10	0,10	1,65	1,60	9
<b>Média</b>			12,90	28,40	2,25	29,25	0,00	15,13	0,12	2,13	1,83	6,25
10	90%	1	8,30	23,50	1	45,00	4,00	10,70	0,10	1,40	1,20	4
10	90%	2	17,00	33,00	3	53,00	4,00	18,00	0,12	2,10	1,85	8
10	90%	3	7,80	26,20	3	8,00	1,00	14,40	0,10	1,10	1,10	2
10	90%	4	5,50	21,50	1	80,00	1,00	8,00	0,10	1,00	0,75	4
<b>Média</b>			9,65	26,05	2,00	46,50	2,50	12,78	0,11	1,40	1,23	4,50
17	90%	1	11,50	36,50	2	196,00	15,00	11,80	0,10	1,70	1,50	8
17	90%	2	13,00	44,00	2	78,00	15,00	13,20	0,10	2,00	1,70	6
17	90%	3	12,40	45,50	2	207,00	8,00	11,30	0,10	1,30	1,35	8
17	90%	4	11,90	36,64	2	40,00	11,00	13,50	0,15	1,80	1,65	4
<b>Média</b>			12,20	40,66	2,00	130,25	12,25	12,45	0,11	1,70	1,55	6,50
18	90%	1	13,50	36,00	2	237,00	14,00	13,00	0,10	1,60	1,50	7
18	90%	2	11,00	36,00	3	149,00	9,00	10,20	0,15	1,70	1,70	5
18	90%	3	10,00	29,90	2	89,00	21,00	11,40	0,10	1,50	1,55	6
18	90%	4	14,90	35,10	2	113,00	11,00	14,20	0,10	1,55	1,70	7
<b>Média</b>			12,35	34,25	2,25	147,00	13,75	12,20	0,11	1,59	1,61	6,25
20	90%	1	11,50	35,00	2	27,00	3,00	18,00	0,15	2,70	2,50	3
20	90%	2	12,60	32,00	2	133,00	18,00	14,20	0,18	1,60	1,65	7
20	90%	3	12,00	28,30	2	109,00	20,00	11,10	0,10	1,60	1,25	7
20	90%	4	13,00	32,30	2	137,00	2,00	11,60	0,12	1,35	1,40	7
<b>Média</b>			12,28	31,90	2,00	101,50	10,75	13,73	0,14	1,81	1,70	6,00
31	90%	1	14,50	34,50	3	53,00	0,00	18,10	0,15	1,70	1,30	8
31	90%	2	15,20	32,50	2	59,00	3,00	15,50	0,12	1,50	1,40	4
31	90%	3	14,40	24,00	3	14,00	2,00	13,30	0,10	1,55	1,50	4
31	90%	4	17,00	29,70	3	33,00	1,00	18,10	0,12	1,95	2,00	6
<b>Média</b>			15,28	30,18	2,75	39,75	1,50	16,25	0,12	1,68	1,55	5,50
35	90%	1	8,60	20,40	2	113,00	3,00	8,50	0,10	0,90	0,95	12
35	90%	2	11,20	29,50	2	73,00	4,00	11,50	0,10	1,20	1,20	1
35	90%	3	12,80	29,00	2	65,00	2,00	12,70	0,15	1,70	1,80	10
35	90%	4	9,50	29,50	1	96,00	4,00	10,40	0,10	1,30	1,40	6
<b>Média</b>			10,53	27,10	1,75	86,75	3,25	10,78	0,11	1,28	1,34	7,25
38	90%	1	9,80	45,00	1	85,00	4,00	12,60	0,15	1,72	1,80	6
38	90%	2	12,00	33,60	2	81,00	11,00	12,00	0,12	1,80	1,55	10
38	90%	3	13,30	30,50	3	20,00	0,00	12,70	0,10	1,80	1,80	1
38	90%	4	15,20	43,00	2	75,00	8,00	14,50	0,10	1,50	1,40	8
<b>Média</b>			12,58	38,03	2,00	65,25	5,75	12,95	0,12	1,71	1,64	6,25

Apêndice 4. Continuação...Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob alta disponibilidade hídrica.

ACESSO	TRAT	REP	EST	LAR	HAB	NFV	NFS	CP	EP	CF	LF	NES1
39	90%	1	7,00	29,40	1	87,00	0,00	7,40	0,10	1,20	1,05	6
39	90%	2	8,50	24,70	1	86,00	2,00	10,10	0,10	1,00	1,10	10
39	90%	3	15,00	34,50	2	40,00	4,00	17,40	0,12	1,50	1,30	7
39	90%	4	9,20	33,60	1	55,00	3,00	8,70	0,10	1,00	0,90	7
<b>Média</b>			9,93	30,55	1,25	67,00	2,25	10,90	0,11	1,18	1,09	7,50
41	90%	1	9,10	43,80	1	413,00	53,00	10,70	0,10	1,00	1,20	10
41	90%	2	13,00	60,00	2	307,00	40,00	12,30	0,10	1,10	1,20	6
41	90%	3	11,30	39,50	1	87,00	2,00	14,10	0,10	1,70	1,80	8
41	90%	4	9,40	35,50	1	91,00	4,00	10,50	0,10	1,10	1,20	6
<b>Média</b>			10,70	44,70	1,25	224,50	24,75	11,90	0,10	1,23	1,35	7,50
44	90%	1	10,00	30,00	1	192,00	53,00	7,20	0,10	1,35	1,50	5
44	90%	2	9,30	27,40	2	111,00	14,00	9,10	0,10	1,30	1,35	5
44	90%	3	8,80	31,20	2	165,00	30,00	8,50	0,10	1,10	1,35	8
44	90%	4	10,70	36,50	2	201,00	23,00	8,90	0,10	1,40	1,50	8
<b>Média</b>			9,70	31,28	1,75	167,25	30,00	8,43	0,10	1,29	1,43	6,50
57	90%	1	10,70	42,00	1	150,00	26,00	11,00	0,12	1,30	1,30	7
57	90%	2	10,50	44,50	2	231,00	20,00	9,30	0,10	1,00	1,30	7
57	90%	3	8,50	22,60	1	68,00	22,00	7,70	0,10	1,30	1,10	11
57	90%	4	13,40	37,30	2	280,00	11,00	12,70	0,10	1,40	1,25	10
<b>Média</b>			10,78	36,60	1,50	182,25	19,75	10,18	0,11	1,25	1,24	8,75
67	90%	1	11,50	31,00	2	30,00	0,00	12,70	0,15	1,70	1,60	6
67	90%	2	10,30	52,00	2	104,00	5,00	11,70	0,15	1,50	1,60	7
67	90%	3	11,30	42,00	2	81,00	0,00	12,50	0,12	1,50	1,50	8
67	90%	4	14,00	58,00	2	53,00	6,00	12,30	0,12	1,60	1,70	4
<b>Média</b>			11,78	45,75	2,00	67,00	2,75	12,30	0,14	1,58	1,60	6,25
74	90%	1	14,50	41,50	2	72,00	4,00	16,60	0,15	2,20	2,00	8
74	90%	2	19,50	38,00	3	91,00	5,00	22,60	0,18	2,60	2,25	8
74	90%	3	20,90	55,00	3	103,00	4,00	21,00	0,15	2,20	2,00	5
74	90%	4	14,80	43,00	2	200,00	5,00	17,60	0,15	1,60	1,70	7
<b>Média</b>			17,43	44,38	2,50	116,50	4,50	19,45	0,16	2,15	1,99	7,00
75	90%	1	15,70	43,00	3	100,00	11,00	17,20	0,12	1,70	1,70	7
75	90%	2	15,90	38,50	2	45,00	5,00	17,10	0,12	1,90	1,85	5
75	90%	3	15,20	37,30	2	86,00	13,00	18,20	0,12	1,85	1,80	7
75	90%	4	15,60	62,50	2	84,00	13,00	18,50	0,20	2,00	1,70	5
<b>Média</b>			15,60	45,33	2,25	78,75	10,50	17,75	0,14	1,86	1,76	6,00
78	90%	1	12,50	41,00	3	159,00	11,00	11,60	0,12	2,00	1,70	6
78	90%	2	12,30	36,00	2	117,00	5,00	11,50	0,10	1,65	1,60	7
78	90%	3	9,40	29,50	2	81,00	0,00	11,50	0,12	1,55	1,50	6
78	90%	4	9,30	44,70	2	91,00	0,00	10,50	0,10	1,60	1,40	7
<b>Média</b>			10,88	37,80	2,25	112,00	4,00	11,28	0,11	1,70	1,55	6,50
79	90%	1	10,80	34,50	2	68,00	3,00	13,30	0,10	1,50	1,50	7
79	90%	2	9,20	45,50	1	50,00	4,00	10,10	0,10	1,50	1,70	2
79	90%	3	12,40	31,50	1	68,00	8,00	10,10	0,10	1,40	1,40	7
79	90%	4	7,90	24,80	3	19,00	0,00	13,70	0,12	1,60	1,25	3
<b>Média</b>			10,08	34,08	1,75	51,25	3,75	11,80	0,11	1,50	1,46	4,75





Apêndice 4. Continuação...Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob alta disponibilidade hídrica.

ACESSO	TRAT	REP	CES1	CEN	EEN	NN	NES2	NES3	NES4	NEStotal	VR
1	90%	1	1,13	0,75	0,30	12	7	0	0	11	4,80
1	90%	2	1,14		0,35	7	0	0	0	7	3,50
1	90%	3	0,60			0	0	0	0	1	1,00
1	90%	4	1,70			5	0	0	0	2	2,00
<b>Média</b>			1,14	0,75	0,33	6,00	1,75	0,00	0,00	5,25	2,83
2	90%	1	4,90	1,20	0,25	11	6	0	0	10	6,20
2	90%	2	1,87	1,30	0,30	7	3	0	0	9	4,50
2	90%	3	1,65		0,35	6	0	0	0	6	2,00
2	90%	4	1,86	0,90	0,30	9	0	0	0	9	5,00
<b>Média</b>			2,57	1,13	0,30	8,25	2,25	0,00	0,00	8,50	4,43
10	90%	1	7,63	1,20	0,20	9	15	0	0	19	2,00
10	90%	2	2,80	1,00	0,29	8	7	0	0	15	8,50
10	90%	3	0,60				0	0	0	2	0,25
10	90%	4	6,05	0,80	0,15	19	22	0	0	26	3,00
<b>Média</b>			4,27	1,00	0,21	12,00	11,00	0,00	0,00	15,50	3,44
17	90%	1	9,46	0,85	0,15	17	28	8	0	44	14,20
17	90%	2	9,12	1,90	0,20	14	33	18	0	57	19,30
17	90%	3	7,90	0,90	0,20	22	29	9	0	46	14,00
17	90%	4	8,25	1,30	0,15	19	7	3	0	14	4,00
<b>Média</b>			8,68	1,24	0,18	18,00	24,25	9,50	0,00	40,25	12,88
18	90%	1	4,94	0,60	0,20	18	28	1	0	36	9,80
18	90%	2	9,62	1,10	0,20	15	22	5	0	32	5,50
18	90%	3	4,98	0,40	0,15	19			0	6	7,80
18	90%	4	7,43	1,50	0,20	8	18	7	0	32	6,00
<b>Média</b>			6,74	0,90	0,19	15,00	22,67	4,33	0,00	26,50	7,28
20	90%	1	11,00	1,80	0,25	14	6	0	0	9	5,20
20	90%	2	7,14	0,60	0,20	21	30	0	0	37	17,50
20	90%	3	8,69	1,00	0,20	19	34	0	0	41	5,80
20	90%	4	9,67	1,10	0,20	17	27	0	0	34	7,80
<b>Média</b>			9,13	1,13	0,21	17,75	24,25	0,00	0,00	30,25	9,08
31	90%	1	3,04	1,40	0,25	13	6	0	0	14	9,00
31	90%	2	9,20	1,00	0,23	16	11	0	0	15	6,00
31	90%	3	2,78	0,80	0,25	11	1	0	0	5	4,70
31	90%	4	2,77	0,50	0,25	11	2	0	0	8	8,00
<b>Média</b>			4,44	0,93	0,25	12,75	5,00	0,00	0,00	10,50	6,93
35	90%	1	2,32	0,60	0,15	19	15	2	0	29	2,20
35	90%	2	12,65	0,85	0,15	15	13	6	0	20	4,00
35	90%	3	5,52	1,30	0,25	11	5	0	0	15	6,90
35	90%	4	7,95	1,25	0,15	13	14	11	0	31	6,00
<b>Média</b>			7,11	1,00	0,18	14,50	11,75	4,75	0,00	23,75	4,78
38	90%	1	10,12	1,20	0,15	13	14	0	0	20	13,70
38	90%	2	6,39	1,30	0,15	13	15	0	0	25	6,80
38	90%	3	12,50	1,50	0,20	11	1	0	0	2	3,00
38	90%	4	8,01	1,10	0,17	19	19	0	0	27	5,80
<b>Média</b>			9,25	1,28	0,17	14,00	12,25	0,00	0,00	18,50	7,33

Apêndice 4. Continuação...Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob alta disponibilidade hídrica.

ACESSO	TRAT	REP	CES1	CEN	EEN	NN	NES2	NES3	NES4	NESTotal	VR
39	90%	1	6,92	1,00	0,15	16	11	0	0	17	4,30
39	90%	2	5,09	1,90	0,13	14	17	0	0	27	3,50
39	90%	3	3,60	1,00	0,20	12	6	0	0	13	2,00
39	90%	4	6,24	1,30	0,15	15	9	0	0	16	3,50
<b>Média</b>			5,46	1,30	0,16	14,25	10,75	0,00	0,00	18,25	3,33
41	90%	1		1,80	0,15	17	53	60	0	123	19,80
41	90%	2	11,25	1,30	0,15	15	52	13	0	71	9,00
41	90%	3	7,94	1,20	0,15	18	12	0	0	20	3,50
41	90%	4	7,25	1,00	0,15	16	17	12	0	35	4,80
<b>Média</b>			8,81	1,33	0,15	16,50	33,50	21,25	0,00	62,25	9,28
44	90%	1	8,12	0,90	0,15	21	0	0	0	5	8,80
44	90%	2		0,90	0,15	28	34	6	0	45	6,20
44	90%	3	6,71	0,90	0,27	23	31	9	0	48	8,00
44	90%	4	6,89	0,80	0,15	24	32	19	0	59	6,00
<b>Média</b>			7,24	0,88	0,18	24,00	24,25	8,50	0,00	39,25	7,25
57	90%	1	9,64	1,20	0,15	11	18	11	3	39	12,00
57	90%	2	10,80	1,50	0,15	21	26	17	0	50	15,10
57	90%	3	5,77	1,15	0,15	12			0	11	5,90
57	90%	4	10,59	0,70	0,15	10	30	16	0	56	13,00
<b>Média</b>			9,20	1,14	0,15	13,50	24,67	14,67	0,75	39,00	11,50
67	90%	1	4,78	1,70	0,25	7	4	0	0	10	3,00
67	90%	2	13,47	2,00	0,20	15	18	0	0	25	7,50
67	90%	3	8,90	1,50	0,17	14	14	0	0	22	8,00
67	90%	4	16,13	1,40	0,20	18	11	0	0	15	6,80
<b>Média</b>			10,82	1,65	0,21	13,50	11,75	0,00	0,00	18,00	6,33
74	90%	1	8,06	1,00	0,27	12	9	2	0	19	9,00
74	90%	2	6,76	0,80	0,30	17	15	0	0	23	7,00
74	90%	3	6,52	1,20	0,30	20	13	2	0	20	8,00
74	90%	4	9,71	1,10	0,20	17	35	4	0	46	23,00
<b>Média</b>			7,76	1,03	0,27	16,50	18,00	2,00	0,00	27,00	11,75
75	90%	1	5,43	1,80	0,25	17	18	2	0	27	9,00
75	90%	2	8,96	0,90	0,20	9	7	0	0	12	5,00
75	90%	3	6,57	0,80	0,20	9	19	3	0	29	6,30
75	90%	4	10,54	1,10	0,20	17	19	2	0	26	8,20
<b>Média</b>			7,88	1,15	0,21	13,00	15,75	1,75	0,00	23,50	7,13
78	90%	1	11,07	1,30	0,20	15	24	2	0	32	16,10
78	90%	2	5,34	1,20	0,20	12	15	9	0	31	9,00
78	90%	3	8,37	1,00	0,27	16	17	0	0	23	6,00
78	90%	4	12,61	1,70	0,20	17	17	0	0	24	5,00
<b>Média</b>			9,35	1,30	0,22	15,00	18,25	2,75	0,00	27,50	9,03
79	90%	1	4,34	0,90	0,20	16	9	0	0	16	7,00
79	90%	2	20,35	1,90	0,20	12	11	0	0	13	5,20
79	90%	3	7,53	1,50	0,15	15	11	0	0	18	5,00
79	90%	4	2,23			7	0	0	0	3	1,80
<b>Média</b>			8,61	1,43	0,18	12,50	7,75	0,00	0,00	12,50	4,75

Apêndice 4. Continuação...Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob alta disponibilidade hídrica.

ACESSO	TRAT	REP	AFtot	AF1fol	MSF	MSFS	MSE	MSR	MSPA	MSTOTAL
1	90%	1	183,46	12,21	0,63	0,00	0,29	0,21	0,92	1,13
1	90%	2	122,21	10,26	0,45		0,11	0,14	0,56	0,70
1	90%	3	22,82	7,91	0,10		0,04	0,04	0,14	0,18
1	90%	4	60,83	9,18	0,23		0,06	0,10	0,29	0,39
<b>Média</b>			97,33	9,89	0,35	0,00	0,12	0,12	0,47	0,60
2	90%	1	149,75	10,71	0,56		0,16	0,35	0,71	1,07
2	90%	2	126,67	18,71	0,46		0,11	0,26	0,58	0,83
2	90%	3	72,02	10,27	0,32		0,09	0,13	0,41	0,54
2	90%	4	145,32	7,92	0,48		0,16	0,25	0,64	0,89
<b>Média</b>			123,44	11,90	0,45		0,13	0,25	0,58	0,83
10	90%	1	66,96	5,04	0,32	0,03	0,19	0,13	0,51	0,64
10	90%	2	183,21	11,66	0,61	0,03	0,20	0,40	0,81	1,21
10	90%	3	17,81	3,63	0,08	0,01	0,03	0,04	0,11	0,15
10	90%	4	64,00	2,25	0,26	0,01	0,14	0,13	0,40	0,53
<b>Média</b>			83,00	5,64	0,32	0,02	0,14	0,17	0,46	0,63
17	90%	1	578,48	7,65	2,25	0,15	0,23	0,93	2,48	3,41
17	90%	2	626,65	10,20	2,26	0,19	0,84	1,51	3,11	4,62
17	90%	3	564,10	5,27	1,95	0,06	1,22	1,40	3,16	4,56
17	90%	4	175,51	8,91	0,64	0,10	0,27	0,21	0,91	1,12
<b>Média</b>			486,19	8,01	1,78	0,12	0,64	1,01	2,41	3,43
18	90%	1	626,81	7,20	2,53	0,10	1,02	0,77	3,56	4,33
18	90%	2	425,13	8,67	1,69	0,08	0,69	0,50	2,37	2,88
18	90%	3	244,62	6,98	0,75	0,11	0,44	0,39	1,19	1,58
18	90%	4	472,87	7,91	1,67	0,12	1,11	0,55	2,78	3,33
<b>Média</b>			442,36	7,69	1,66	0,10	0,81	0,55	2,47	3,03
20	90%	1	188,72	20,25	0,73	0,04	0,32	0,27	1,06	1,33
20	90%	2	405,53	7,92	1,41	0,09	0,52	0,84	1,93	2,77
20	90%	3	167,83	6,00	0,64	0,14	0,39	0,38	1,03	1,41
20	90%	4	305,34	5,67	1,02	0,01	0,72	0,46	1,75	2,20
<b>Média</b>			266,86	9,96	0,95	0,07	0,49	0,49	1,44	1,93
31	90%	1	159,29	6,63	0,69		0,46	0,23	1,15	1,39
31	90%	2	190,71	6,30	0,74	0,04	0,05	0,32	0,78	1,10
31	90%	3	46,16	6,98	0,17	0,02	0,10	0,10	0,27	0,36
31	90%	4	149,31	11,70	0,59	0,02	0,21	0,22	0,80	1,02
<b>Média</b>			136,37	7,90	0,55	0,03	0,20	0,22	0,75	0,97
35	90%	1	76,92	2,57	0,27	0,01	0,09	0,13	0,36	0,49
35	90%	2	125,32	4,32	0,40	0,01	0,23	0,22	0,64	0,85
35	90%	3	241,44	9,18	0,92	0,02	0,32	0,38	1,23	1,61
35	90%	4	178,36	5,46	0,67	0,02	0,48	0,31	1,14	1,45
<b>Média</b>			155,51	5,38	0,57	0,01	0,28	0,26	0,84	1,10
38	90%	1	227,94	9,29	1,04	0,05	0,49	0,48	1,53	2,01
38	90%	2	261,84	8,37	0,91	0,07	0,45	0,43	1,36	1,79
38	90%	3	69,61	9,72	0,28		0,11	0,12	0,38	0,50
38	90%	4	173,99	6,30	0,70	0,08	0,30	0,26	1,00	1,27
<b>Média</b>			183,35	8,42	0,73	0,07	0,34	0,32	1,07	1,39

Apêndice 4. Continuação...Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob alta disponibilidade hídrica.

ACESSO	TRAT	REP	AFtot	AF1fol	MSF	MSFS	MSE	MSR	MSPA	MSTOTAL
39	90%	1	107,93	3,78	0,51		0,40	0,23	0,91	1,14
39	90%	2	92,56	3,30	0,36	0,01	0,19	0,19	0,55	0,73
39	90%	3	102,69	5,85	0,46	0,04	0,22	0,13	0,68	0,80
39	90%	4	47,49	2,70	0,24	0,01	0,19	0,12	0,44	0,56
<b>Média</b>			87,67	3,91	0,39	0,02	0,25	0,17	0,64	0,81
41	90%	1	546,14	3,60	2,37	0,22	2,09	1,12	4,46	5,58
41	90%	2	410,39	3,96	1,61	0,14	0,94	0,56	2,54	3,10
41	90%	3	164,36	9,18	0,76	0,02	0,43	0,19	1,19	1,38
41	90%	4	111,94	3,96	0,55	0,03	0,46	0,20	1,01	1,21
<b>Média</b>			308,21	5,18	1,32	0,10	0,98	0,52	2,30	2,82
44	90%	1	347,89	6,08	0,44	0,27	0,57	0,66	1,00	1,66
44	90%	2	342,17	5,27	1,07	0,06	0,62	0,42	1,69	2,11
44	90%	3	283,44	4,46	1,01	0,14	0,65	0,43	1,66	2,09
44	90%	4	406,47	6,30	1,27	0,09	0,69	0,37	1,96	2,32
<b>Média</b>			344,99	5,52	0,95	0,14	0,63	0,47	1,58	2,05
57	90%	1	305,88	5,07	1,28	0,14	0,62	0,68	1,90	2,59
57	90%	2	426,39	3,90	1,57	0,10	0,98	0,77	2,55	3,32
57	90%	3	93,98	4,29	0,31	0,12	0,38	0,36	0,69	1,05
57	90%	4	442,55	5,25	1,83	0,07	1,15	0,78	2,98	3,76
<b>Média</b>			317,20	4,63	1,25	0,11	0,78	0,65	2,03	2,68
67	90%	1	105,17	8,16	0,53		0,18	0,19	0,71	0,90
67	90%	2	284,81	7,20	1,32	0,05	0,85	0,54	2,17	2,71
67	90%	3	238,26	6,75	0,85		0,35	0,34	1,20	1,53
67	90%	4	187,62	8,16	0,74	0,04	0,52	0,37	1,26	1,64
<b>Média</b>			203,97	7,57	0,86	0,05	0,48	0,36	1,34	1,70
74	90%	1	512,93	13,20	2,11	0,06	0,87	0,89	2,98	3,87
74	90%	2	583,80	17,55	2,38	0,12	0,84	1,00	3,22	4,22
74	90%	3	480,04	13,20	2,73	0,14	1,13	0,79	3,86	4,65
74	90%	4	756,86	8,16	2,80	0,07	0,36	1,44	3,16	4,60
<b>Média</b>			583,41	13,03	2,51	0,10	0,80	1,03	3,31	4,33
75	90%	1	460,27	8,67	1,90	0,12	0,54	0,59	2,44	3,03
75	90%	2	224,23	10,55	1,05	0,08	0,46	0,34	1,50	1,85
75	90%	3	408,40	9,99	1,54	0,15	0,69	0,43	2,22	2,65
75	90%	4	404,06	10,20	1,88	0,22	0,81	0,44	2,68	3,12
<b>Média</b>			374,24	9,85	1,59	0,14	0,62	0,45	2,21	2,66
78	90%	1	535,34	10,20	2,21	0,13	1,19	1,14	3,40	4,54
78	90%	2	274,28	7,92	1,12	0,05	0,75	0,67	1,87	2,54
78	90%	3	215,68	6,98	0,84		0,19	0,40	1,02	1,42
78	90%	4	199,55	6,72	0,80		0,57	0,37	1,37	1,73
<b>Média</b>			306,21	7,95	1,24	0,09	0,67	0,64	1,91	2,56
79	90%	1	182,25	6,75	0,57	0,03	0,18	0,28	0,74	1,02
79	90%	2	151,09	7,65	0,70	0,05	0,47	0,30	1,18	1,48
79	90%	3	139,37	5,88	0,53	0,04	0,26	0,24	0,79	1,03
79	90%	4	49,76	6,00	0,18		0,04	0,06	0,22	0,28
<b>Média</b>			130,62	6,57	0,50	0,04	0,24	0,22	0,73	0,95



Apêndice 4. Continuação...Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob alta disponibilidade hídrica.

ACESSO	TRAT	REP	A	g	Tr	EUA	MSPAtotal(2cortes)
1	90%	1	8,46	0,54	4,06	2,08	1,18
1	90%	2	13,40	0,50	4,26	3,15	0,65
1	90%	3	3,56	0,56	4,86	0,73	0,16
1	90%	4	7,72	0,50	4,21	1,83	0,43
<b>Média</b>			8,29	0,52	4,35	1,95	0,61
2	90%	1	12,20	0,60	4,19	2,91	0,92
2	90%	2	9,95	0,58	4,17	2,39	0,85
2	90%	3	14,50	0,42	3,75	3,87	0,60
2	90%	4	3,56	0,45	3,71	0,96	0,86
<b>Média</b>			10,05	0,51	3,96	2,53	0,81
10	90%	1	12,70	0,38	3,66	3,47	0,58
10	90%	2	6,36	0,55	4,35	1,46	0,95
10	90%	3	13,60	0,50	4,64	2,93	0,15
10	90%	4	19,60	0,47	4,12	4,76	0,50
<b>Média</b>			13,07	0,47	4,19	3,16	0,54
17	90%	1	11,90	0,23	2,40	4,96	3,04
17	90%	2	12,30	0,22	2,26	5,44	4,00
17	90%	3	13,00	0,27	3,07	4,23	4,02
17	90%	4	16,40	0,39	3,52	4,66	1,42
<b>Média</b>			13,40	0,28	2,81	4,82	3,12
18	90%	1	4,50	0,63	4,86	0,93	4,34
18	90%	2	7,20	0,65	3,83	1,88	2,83
18	90%	3	6,51	0,36	3,61	1,80	1,69
18	90%	4	12,70	0,29	2,40	5,29	3,96
<b>Média</b>			7,73	0,48	3,68	2,48	3,21
20	90%	1	10,90	0,43	3,72	2,93	1,24
20	90%	2	11,10	0,35	3,16	3,51	2,35
20	90%	3	14,20	0,28	2,89	4,91	2,11
20	90%	4	19,00	0,42	3,70	5,14	2,29
<b>Média</b>			13,80	0,37	3,37	4,12	2,00
31	90%	1	13,40	0,61	4,70	2,85	1,26
31	90%	2	8,58	0,33	2,72	3,15	0,78
31	90%	3	13,80	0,61	5,08	2,72	0,46
31	90%	4	14,70	0,23	2,35	6,26	1,15
<b>Média</b>			12,62	0,44	3,71	3,74	0,91
35	90%	1	15,30	0,50	4,26	3,59	0,45
35	90%	2	11,00	0,20	2,20	5,00	0,83
35	90%	3	7,13	0,18	1,96	3,64	1,47
35	90%	4	8,36	0,40	3,48	2,40	1,56
<b>Média</b>			10,45	0,32	2,98	3,66	1,08
38	90%	1	22,90	0,53	4,17	5,49	1,73
38	90%	2	5,64	0,47	4,05	1,39	1,82
38	90%	3	14,10	0,40	3,95	3,57	0,46
38	90%	4	13,20	0,28	2,69	4,91	1,54
<b>Média</b>			13,96	0,42	3,72	3,84	1,39

Apêndice 4. Continuação...Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob alta disponibilidade hídrica.

ACESSO	TRAT	REP	A	g	Tr	EUA	MSPAtotal(2cortes)
39	90%	1	16,20	0,50	4,38	3,70	1,06
39	90%	2	13,60	0,32	2,95	4,61	0,68
39	90%	3	16,70	0,44	3,98	4,20	0,94
39	90%	4	17,80	0,28	2,51	7,09	0,53
<b>Média</b>			16,08	0,39	3,46	4,90	0,80
41	90%	1	13,30	0,44	3,67	3,62	5,41
41	90%	2	12,50	0,36	3,09	4,05	3,27
41	90%	3	11,80	0,31	3,22	3,66	1,52
41	90%	4	14,90	0,19	2,05	7,27	1,31
<b>Média</b>			13,13	0,32	3,01	4,65	2,88
44	90%	1	6,24	0,54	3,76	1,66	1,70
44	90%	2	11,30	0,44	3,38	3,34	2,32
44	90%	3	16,50	0,30	2,97	5,56	2,35
44	90%	4	16,50	0,30	2,61	6,32	2,74
<b>Média</b>			12,64	0,39	3,18	4,22	2,28
57	90%	1	17,70	0,61	4,05	4,37	2,85
57	90%	2	18,00	0,43	3,44	5,23	3,30
57	90%	3	16,40	0,50	4,10	4,00	1,73
57	90%	4	8,48	0,07	0,92	9,25	4,22
<b>Média</b>			15,15	0,40	3,13	5,71	3,02
67	90%	1	13,30	0,40	3,53	3,77	0,81
67	90%	2	16,50	0,51	3,72	4,44	2,63
67	90%	3	13,60	0,50	4,10	3,32	1,62
67	90%	4	8,68	0,32	2,96	2,93	1,50
<b>Média</b>			13,02	0,43	3,58	3,61	1,64
74	90%	1	14,10	0,71	4,72	2,99	4,34
74	90%	2	16,40	0,72	4,89	3,35	5,02
74	90%	3	14,20	0,45	3,74	3,80	5,27
74	90%	4	7,82	0,63	4,17	1,88	4,31
<b>Média</b>			13,13	0,63	4,38	3,00	4,74
75	90%	1	9,69	0,63	4,43	2,19	3,53
75	90%	2	11,40	0,41	3,40	3,35	2,68
75	90%	3	10,90	0,38	3,65	2,99	3,75
75	90%	4	11,40	0,21	2,06	5,53	4,08
<b>Média</b>			10,85	0,41	3,39	3,52	3,51
78	90%	1	7,94	0,67	4,86	1,63	4,28
78	90%	2	11,90	0,40	3,29	3,62	2,52
78	90%	3	15,90	0,55	4,21	3,78	1,44
78	90%	4	19,50	0,53	3,76	5,19	1,75
<b>Média</b>			13,81	0,54	4,03	3,55	2,50
79	90%	1	13,50	0,52	3,52	3,84	0,97
79	90%	2	10,10	0,43	3,77	2,68	1,44
79	90%	3	20,50	0,46	4,11	4,99	0,95
79	90%	4	12,40	0,42	3,47	3,57	0,32
<b>Média</b>			14,13	0,45	3,72	3,77	0,92

Apêndice 5. Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob déficit hídrico.

ACESSO	TRAT	REP	EST	LAR	HAB	NFV	NFS	CP	EP	CF	LF	NES1
1	50%	1	6,00	20,00	3	4	0	9,60	0,12	1,45	1,35	0
1	50%	2	9,00	16,50	3	3	1	10,70	0,12	1,20	1,20	0
1	50%	3	7,00	13,00	3	2	3	6,70	0,10	1,10	1,05	0
1	50%	4	10,00	19,70	3	12	0	11,10	0,10	1,30	1,10	1
<b>Média</b>			8,00	17,30	3,00	5,25	1,00	9,53	0,11	1,26	1,18	0,25
2	50%	1	8,50	10,00	3	3	0	8,80	0,10	1,10	1,20	0
2	50%	2	7,30	13,70	3	2	2	9,70	0,10	1,20	1,10	0
2	50%	3	9,50	6,30	3	3	1	8,90	0,10	1,00	0,80	0
2	50%	4	5,90	12,10	3	3	0	7,70	0,10	1,00	0,90	0
<b>Média</b>			7,80	10,53	3,00	2,75	0,75	8,78	0,10	1,08	1,00	0,00
10	50%	1	9,00	14,50	3	17	0	8,50	0,10	1,25	1,15	3
10	50%	2	6,00	12,30	3	3	0	8,30	0,10	1,00	1,10	0
10	50%	3	5,90	23,80	3	4	3	12,80	0,12	1,40	1,30	0
10	50%	4	4,70	8,80	3	11	2	5,10	0,09	0,70	0,60	2
<b>Média</b>			6,40	14,85	3,00	8,75	1,25	8,68	0,10	1,09	1,04	1,25
17	50%	1	7,50	15,50	2	15	4	8,20	0,10	1,40	1,20	2
17	50%	2	8,50	14,30	3	15	9	6,80	0,10	1,50	1,00	4
17	50%	3	11,00	21,00	3	19	3	9,20	0,10	1,50	1,20	4
17	50%	4	8,20	24,40	2	31	7	8,90	0,10	1,30	1,05	6
<b>Média</b>			8,80	18,80	2,50	20,00	5,75	8,28	0,10	1,43	1,11	4,00
18	50%	1	6,00	11,00	2	18	0	5,20	0,10	1,30	0,75	3
18	50%	2	6,40	14,00	2	16	0	6,70	0,10	1,30	1,15	4
18	50%	3	4,90	18,80	2	14	25	9,80	0,10	1,10	0,70	3
18	50%	4	9,00	29,00	2	36	7	12,00	0,12	1,30	1,35	5
<b>Média</b>			6,58	18,20	2,00	21,00	8,00	8,43	0,11	1,25	0,99	3,75
20	50%	1	8,00	21,00	2	22	14	8,40	0,10	1,30	1,15	3
20	50%	2	9,30	18,00	2	10	1	8,20	0,10	1,20	0,90	2
20	50%	3	6,00	14,50	2	14	3	7,60	0,10	1,00	1,10	3
20	50%	4	8,20	19,60	2	14	2	10,00	0,10	0,90	1,15	4
<b>Média</b>			7,88	18,28	2,00	15,00	5,00	8,55	0,10	1,10	1,08	3,00
31	50%	1	9,50	7,00	3	3	1	8,70	0,10	1,40	1,10	
31	50%	2	11,00	26,00	3	14	8	12,70	0,10	1,50	1,50	3
31	50%	3	10,40	18,20	3	13	7	10,40	0,10	1,20	1,00	3
31	50%	4	10,40	28,60	3	15	3	14,60	0,10	1,50	1,50	5
<b>Média</b>			10,33	19,95	3,00	11,25	4,75	11,60	0,10	1,40	1,28	3,67
35	50%	1										
35	50%	2	3,00	8,00	1	14	8	3,10	0,09	0,65	0,70	2
35	50%	3	4,10	12,20	3	30	7	6,00	0,09	0,70	0,60	6
35	50%	4	5,40	10,50	2	15	3	5,10	0,09	0,60	0,80	3
<b>Média</b>			4,17	10,23	2,00	19,67	6,00	4,73	0,09	0,65	0,70	3,67
38	50%	1	5,50	14,30	2	9	5	6,00	0,10	1,15	0,95	3
38	50%	2	3,80	10,60	1	16	0	4,20	0,09	0,90	1,00	4
38	50%	3	8,80	15,30	3	20	15	9,20	0,10	1,20	1,20	3
38	50%	4	8,00	20,00	2	22	3	9,20	0,10	1,10	1,15	4
<b>Média</b>			6,53	15,05	2,00	16,75	5,75	7,15	0,10	1,09	1,08	3,50

Apêndice 5. Continuação...Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob déficit hídrico.

ACESSO	TRAT	REP	EST	LAR	HAB	NFV	NFS	CP	EP	CF	LF	NES1
39	50%	1	2,80	7,00	1	24	3	2,50	0,09	0,50	0,55	5
39	50%	2	3,00	7,70	1	17	0	3,50	0,10	0,70	0,75	3
39	50%	3	5,50	8,90	3	11	0	5,90	0,09	0,80	0,70	2
39	50%	4	7,50	11,40	2	14	1	6,80	0,10	0,90	0,95	1
<b>Média</b>			4,70	8,75	1,75	16,50	1,00	4,68	0,10	0,73	0,74	2,75
41	50%	1	5,50	19,00	2	43	4	6,60	0,09	0,80	0,95	5
41	50%	2	5,20	20,50	1	33	4	5,50	0,09	0,80	0,70	6
41	50%	3	4,10	20,90	1	52	4	6,30	0,09	0,70	0,70	6
41	50%	4	4,90	28,00	1	34	7	8,80	0,10	0,80	0,80	7
<b>Média</b>			4,93	22,10	1,25	40,50	4,75	6,80	0,09	0,78	0,79	6,00
44	50%	1	4,30	15,00	1	34	21	4,20	0,10	0,65	0,75	6
44	50%	2	3,10	16,50	1	57	32	4,20	0,10	0,80	0,80	3
44	50%	3	5,00	25,00	1	48	27	5,40	0,10	0,90	0,95	2
44	50%	4	4,50	18,30	1	37	10	4,00	0,10	0,70	0,70	3
<b>Média</b>			4,23	18,70	1,00	44,00	22,50	4,45	0,10	0,76	0,80	3,50
57	50%	1	5,80	20,70	1	34	12	4,80	0,10	0,90	0,85	6
57	50%	2	8,00	24,30	2	29	15	6,20	0,10	0,90	0,95	6
57	50%	3	4,00	13,90	1	20	8	5,10	0,09	0,90	0,70	4
57	50%	4	6,50	28,50	1	24	13	8,00	0,10	1,10	1,00	3
<b>Média</b>			6,08	21,85	1,25	26,75	12,00	6,03	0,10	0,95	0,88	4,75
67	50%	1	4,50	7,50	2	10	0	4,30	0,10	1,00	0,80	2
67	50%	2	7,50	9,70	3	6	0	6,70	0,12	1,05	1,05	0
67	50%	3	8,40	9,00	3	8	0	7,20	0,10	1,05	1,05	1
67	50%	4	8,20	17,90	2	21	6	9,00	0,10	1,40	1,30	4
<b>Média</b>			7,15	11,03	2,50	11,25	1,50	6,80	0,11	1,13	1,05	1,75
74	50%	1	5,80	10,50	2	16	2	5,40	0,10	1,30	1,00	4
74	50%	2	6,50	10,50	3	11	0	7,60	0,12	1,30	1,20	0
74	50%	3	7,30	18,50	3	39	6	6,40	0,10	1,20	1,00	4
74	50%	4	9,70	26,20	2	63	7	9,50	0,12	1,30	1,10	6
<b>Média</b>			7,33	16,43	2,50	32,25	3,75	7,23	0,11	1,28	1,08	3,50
75	50%	1	7,80	20,50	2	25	7	7,50	0,10	1,30	1,10	4
75	50%	2	7,80	24,00	2	26	3	9,50	0,12	1,40	1,30	3
75	50%	3	9,00	25,30	2	45	2	9,40	0,10	1,40	1,20	6
75	50%	4	8,70	19,30	2	29	6	10,00	0,12	1,60	1,20	5
<b>Média</b>			8,33	22,28	2,00	31,25	4,50	9,10	0,11	1,43	1,20	4,50
78	50%	1	3,70	14,00	2	25	2	5,20	0,10	1,30	1,20	5
78	50%	2	5,50	10,40	2	42	2	3,60	0,10	1,00	0,75	4
78	50%	3	8,00	24,00	2	42	5	8,70	0,10	1,25	1,10	3
78	50%	4	8,80	22,00	2	47	7	6,80	0,10	1,00	0,95	6
<b>Média</b>			6,50	17,60	2,00	39,00	4,00	6,08	0,10	1,14	1,00	4,50
79	50%	1	5,50	12,50	2	17	3	5,00	0,09	0,80	0,65	2
79	50%	2	4,30	14,50	2	7	2	7,20	0,10	0,95	0,70	1
79	50%	3	5,30	10,40	3	7	0	5,60	0,10	0,85	0,80	1
79	50%	4	8,20	23,10	2	18	5	12,50	0,10	1,20	1,10	3
<b>Média</b>			5,83	15,13	2,25	12,25	2,50	7,58	0,10	0,95	0,81	1,75

Apêndice 5. Continuação...Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob déficit hídrico.

ACESSO	TRAT	REP	CESprimários							CES1	CEN	EEN	NN
1	50%	1										0	
1	50%	2										0	
1	50%	3										0	
1	50%	4	1,3						1,30			7	
<b>Média</b>									1,30			1,75	
2	50%	1										0	
2	50%	2										0	
2	50%	3										0	
2	50%	4										0	
<b>Média</b>												0,00	
10	50%	1	0,7	0,4	3				1,37	0,30		7	
10	50%	2										0	
10	50%	3										0	
10	50%	4	0,4	1,1					0,75	0,20	0,20	5	
<b>Média</b>									1,06	0,25	0,20	3,00	
17	50%	1	5,7	5,7					5,70	1,40	0,20	6	
17	50%	2	2,7	1,3	5,5	2,3			2,95	1,70	0,20	9	
17	50%	3	7,6	2,6	3,3	4,2			4,43	0,70	0,20	15	
17	50%	4	4,5	1,4	1,9	5,5	1,4	1,8	2,75	1,00	0,20	3	
<b>Média</b>									3,96	1,20	0,20	8,25	
18	50%	1	2,4	2,5	0,2				1,70	0,30		9	
18	50%	2	3,6	7,6	2,3	3,9			4,35	1,50	0,20	10	
18	50%	3	6,2	2,8	6,8				5,27	0,90	0,20	11	
18	50%	4	5,1	3	5,3	1,5	0,4		3,06	0,30	0,20	8	
<b>Média</b>									3,59	0,75	0,20	9,50	
20	50%	1	4,8	8	1,5				4,77	1,00	0,20	12	
20	50%	2	3,3	10,8					7,05	1,60	0,20	13	
20	50%	3	2,7	1,3	3,2				2,40	0,30		10	
20	50%	4	3,3	4,7	1,5	1,9			2,85	0,30	0,15	11	
<b>Média</b>									4,27	0,80	0,18	11,50	
31	50%	1										0	
31	50%	2	5,1	2,6	0,6				2,77	0,40		9	
31	50%	3	2,3	1	0,8				1,37	0,30		8	
31	50%	4	0,4	0,2	3,3	0,2	0,3		0,88	0,40	0,25	10	
<b>Média</b>									1,67	0,37	0,25	6,75	
35	50%	1											
35	50%	2	1,4	0,7					1,05	0,10		8	
35	50%	3	1,1	2	0,5	0,9	0,9	1,5	1,15				
35	50%	4	0,9	0,8	0,2				0,63	0,10	0,15	4	
<b>Média</b>									0,94	0,10	0,15	6,00	
38	50%	1	3,3	3,2	0,8				2,43	0,40	0,15	7	
38	50%	2	2,1	2,1	1	1,2			1,60			6	
38	50%	3	5,8	3	5,7				4,83	0,80	0,20	9	
38	50%	4	9	0,3	2,7	1,3			3,33	0,50	0,15	14	
<b>Média</b>									3,05	0,57	0,17	9,00	

Apêndice 5. Continuação...Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob déficit hídrico.

ACESSO	TRAT	REP	CESprimários							CES1	CEN	EEN	NN
39	50%	1	2,3	0,3	0,8	1,1	0,8			1,06	0,30		11
39	50%	2	1	0,6	0,3					0,63			6
39	50%	3	1,6	1,5						1,55	0,25	0,15	6
39	50%	4	7,5							7,50	0,30	0,15	11
<b>Média</b>										2,69	0,28	0,15	8,50
41	50%	1	5	2	9	7	4			5,40	1,60	0,10	11
41	50%	2	13,5	13	0,4	4,3				7,80	1,80	0,15	12
41	50%	3	4,5	5,1	6,8	15,9	3,5	4,2		6,67	0,50	0,15	9
41	50%	4	2	5,7	2,1	15,6	7,5	12	22,2	9,59	1,10	0,15	21
<b>Média</b>										7,36	1,25	0,14	13,25
44	50%	1	6	3,9	1,2	2,9	1	1,4		2,73	0,60	0,20	14
44	50%	2	6	7,8	5,9					6,57	0,80	0,20	19
44	50%	3	9,4	9,5						9,45	0,50	0,20	20
44	50%	4	10,1	7,5	7,4					8,33	1,30	0,15	15
<b>Média</b>										6,77	0,80	0,19	17,00
57	50%	1	9	2,6	3,1	10,2	5,5	3,7		5,68	1,00	0,15	13
57	50%	2	8,7	2	13,5	8,5	9,6	2,3		7,43	1,00	0,15	13
57	50%	3	2,4	1,3	5,5	8,3				4,38	1,80	0,15	12
57	50%	4	8,8	8,8	15,5					11,03	1,30	0,15	13
<b>Média</b>										7,13	1,28	0,15	12,75
67	50%	1	1	1,1						1,05	0,10		5
67	50%	2											0
67	50%	3	1							1,00		0,15	5
67	50%	4	5,9	6,3	1,4	1,1				3,68	0,60	0,20	9
<b>Média</b>										1,91	0,35	0,18	4,75
74	50%	1	1,5	1,4	0,9	0,9				1,18			
74	50%	2											0
74	50%	3	6,5	7,7	1	1,6				4,20	1,80	0,25	10
74	50%	4	10,5	2,4	0,9	7,5	8,9	2,7		5,48	1,40	0,25	14
<b>Média</b>										3,62	1,60	0,25	8,00
75	50%	1	7,7	6,7	2,5	5,7				5,65	2,00	0,20	7
75	50%	2	8,5	5	5					6,17	1,20	0,20	13
75	50%	3	11	2,4	6,8	3,5	1,2	1,2		4,35	1,70	0,25	14
75	50%	4	7,7	0,4	1	2,4	1,7			2,64	1,10	0,20	13
<b>Média</b>										4,70	1,50	0,21	11,75
78	50%	1	4,1	1,8	1	2,4	1,2			2,10	0,30		10
78	50%	2	5,1	1,2	2,8	3,6				3,18	0,70	0,20	6
78	50%	3	7	1,4	7,5					5,30	1,90	0,20	13
78	50%	4	10,7	0,9	1,2	1,5	4,2	7,8		4,38	1,20	0,20	13
<b>Média</b>										3,74	1,03	0,20	10,50
79	50%	1	5,6	4,6						5,10	0,80	0,15	8
79	50%	2	2							2,00	0,20		9
79	50%	3	1,2							1,20	0,15	0,15	6
79	50%	4	3,8	8,3	2,7					4,93	0,50	0,20	14
<b>Média</b>										3,31	0,41	0,17	9,25

Apêndice 5. Continuação...Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob déficit hídrico.

ACESSO	TRAT	REP	NES2	NES3	NES4	NEStotal	VR	AFtot	AF1fol	MSF	MSFS
1	50%	1	0	0	0	0	0,35	10,00	5,87	0,05	
1	50%	2	0	0	0	0	0,30	6,38	4,32	0,04	0,00
1	50%	3	0	0	0	0	0,35	2,14	3,47	0,01	0,02
1	50%	4	0	0	0	1	0,40	17,08	4,29	0,12	
<b>Média</b>			0,00	0,00	0,00	0,25	0,35	8,90	4,49	0,06	0,01
2	50%	1	0	0	0	0	0,25	6,30	3,96	0,05	
2	50%	2	0	0	0	0	0,20	3,42	3,96	0,02	0,02
2	50%	3	0	0	0	0	0,40	4,58	2,40	0,03	0,01
2	50%	4	0	0	0	0	0,35	5,45	2,70	0,02	
<b>Média</b>			0,00	0,00	0,00	0,00	0,30	4,94	3,26	0,03	0,01
10	50%	1	0	0	0	3	0,50	26,27	4,31	0,16	
10	50%	2	0	0	0	0	0,10	6,26	3,30	0,04	
10	50%	3	0	0	0	0	0,40	9,05	5,46	0,06	0,02
10	50%	4	0	0	0	2	0,15	6,63	1,26	0,03	0,00
<b>Média</b>			0,00	0,00	0,00	1,25	0,29	12,05	3,58	0,07	0,01
17	50%	1	3	0	0	5	1,00	20,20	5,04	0,12	0,04
17	50%	2	2	0	0	6	0,80	20,50	4,50	0,14	0,07
17	50%	3	0	0	0	4	1,20	41,77	5,40	0,28	0,04
17	50%	4	4	0	0	10	1,45	46,79	4,10	0,35	0,06
<b>Média</b>			2,25	0,00	0,00	6,25	1,11	32,32	4,76	0,22	0,05
18	50%	1	2	0	0	5	0,65	17,54	2,93	0,12	
18	50%	2	1	0	0	5	0,90	26,08	4,49	0,13	
18	50%	3	4	0	0	7	0,95	20,84	2,31	0,08	0,13
18	50%	4	4	0	0	9	1,55	72,64	5,27	0,37	0,06
<b>Média</b>			2,75	0,00	0,00	6,50	1,01	34,28	3,75	0,17	0,10
20	50%	1	3	0	0	6	0,95	37,91	4,49	0,25	0,14
20	50%	2	1	0	0	3	0,40	14,94	3,24	0,09	0,02
20	50%	3	1	0	0	4	0,50	22,17	3,30	0,10	0,02
20	50%	4	0	0	0	4	0,30	21,74	3,11	0,14	0,02
<b>Média</b>			1,25	0,00	0,00	4,25	0,54	24,19	3,53	0,14	0,05
31	50%	1	0	0	0	0	0,45	5,21	4,62	0,05	0,01
31	50%	2	0	0	0	3	0,60	33,88	6,75	0,19	0,05
31	50%	3	0	0	0	3	0,65	18,77	3,60	0,09	0,02
31	50%	4	0	0	0	5	0,70	37,58	6,75	0,20	0,01
<b>Média</b>			0,00	0,00	0,00	2,75	0,60	23,86	5,43	0,13	0,02
35	50%	1									
35	50%	2	0	0	0	2	0,40	6,88	1,37	0,03	0,02
35	50%	3	0	0	0	6	0,45	16,38	1,26	0,08	0,01
35	50%	4	0	0	0	3	0,20	9,83	1,44	0,03	0,01
<b>Média</b>			0,00	0,00	0,00	3,67	0,35	11,03	1,36	0,05	0,01
38	50%	1	0	0	0	3	0,60	9,63	3,28	0,06	0,03
38	50%	2	0	0	0	4	0,50	20,03	2,70	0,12	
38	50%	3	1	0	0	4	0,60	31,63	4,32	0,14	0,08
38	50%	4	1	0	0	5	0,70	38,53	3,80	0,17	0,02
<b>Média</b>			0,50	0,00	0,00	4,00	0,60	24,96	3,52	0,12	0,04

Apêndice 5. Continuação...Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob déficit hídrico.

ACESSO	TRAT	REP	NES2	NES3	NES4	NEStotal	VR	AFtot	AF1fol	MSF	MSFS
39	50%	1	0	0	0	5	1,00	10,01	0,83	0,06	0,01
39	50%	2	0	0	0	3	0,40	7,97	1,58	0,06	
39	50%	3	0	0	0	2	0,35	11,23	1,68	0,06	
39	50%	4	2	0	0	3	0,25	17,21	2,57	0,09	0,00
<b>Média</b>			0,50	0,00	0,00	3,25	0,50	11,61	1,66	0,07	0,00
41	50%	1	3	0	0	8	1,60	33,89	2,28	0,17	0,02
41	50%	2	4	0	0	10	1,20	27,25	1,68	0,16	0,02
41	50%	3	7	0	0	13	0,80	23,85	1,47	0,13	0,01
41	50%	4	1	0	0	8	0,70	26,82	1,92	0,19	0,03
<b>Média</b>			3,75	0,00	0,00	9,75	1,08	27,95	1,84	0,16	0,02
44	50%	1	2	0	0	8	0,95	19,81	1,46	0,14	0,08
44	50%	2	13	0	0	16	1,10	35,12	1,92	0,19	0,11
44	50%	3	17	0	0	19	1,00	45,92	2,57	0,22	0,09
44	50%	4	11	0	0	14	1,50	28,98	1,47	0,16	0,07
<b>Média</b>			10,75	0,00	0,00	14,25	1,14	32,46	1,85	0,18	0,09
57	50%	1	4	0	0	10	0,30	28,60	2,30	0,14	0,05
57	50%	2	2	0	0	8	0,90	34,59	2,57	0,18	0,09
57	50%	3	1	0	0	5	0,40	16,32	1,89	0,07	0,03
57	50%	4	6	0	0	9	0,60	22,63	3,30	0,09	0,06
<b>Média</b>			3,25	0,00	0,00	8,00	0,55	25,54	2,51	0,12	0,06
67	50%	1	0	0	0	2	0,75	10,49	2,40	0,06	
67	50%	2	0	0	0	0	0,10	10,45	3,31	0,05	
67	50%	3	0	0	0	1	0,60	12,72	3,31	0,07	
67	50%	4	0	0	0	4	1,10	46,22	5,46	0,27	0,01
<b>Média</b>			0,00	0,00	0,00	1,75	0,64	19,97	3,62	0,11	0,01
74	50%	1	0	0	0	4	0,80	25,95	3,90	0,14	0,02
74	50%	2	0	0	0	0	1,20	26,08	4,68	0,16	
74	50%	3	2	0	0	6	1,50	56,63	3,60	0,31	0,02
74	50%	4	11	0	0	17	2,30	117,83	4,29	0,13	0,03
<b>Média</b>			3,25	0,00	0,00	6,75	1,45	56,62	4,12	0,18	0,02
75	50%	1	3	0	0	7	1,20	33,74	4,29	0,23	0,03
75	50%	2	3	0	0	6	0,45	53,44	5,46	0,31	0,01
75	50%	3	5	0	0	11	1,95	81,87	5,04	0,44	0,01
75	50%	4	4	0	0	9	1,25	71,57	5,76	0,37	0,08
<b>Média</b>			3,75	0,00	0,00	8,25	1,21	60,16	5,14	0,34	0,03
78	50%	1	0	0	0	5	0,85	47,71	4,68	0,27	0,01
78	50%	2	12	0	0	16	1,00	34,69	2,25	0,18	0,00
78	50%	3	8	0	0	11	0,80	66,13	4,13	0,34	0,02
78	50%	4	7	0	0	13	1,20	52,21	2,85	0,31	0,03
<b>Média</b>			6,75	0,00	0,00	11,25	0,96	50,19	3,48	0,28	0,01
79	50%	1	0	0	0	2	0,50	10,73	1,56	0,08	0,01
79	50%	2	0	0	0	1	0,30	6,96	2,00	0,04	0,02
79	50%	3	0	0	0	1	0,25	7,41	2,04	0,04	
79	50%	4	1	0	0	4	0,50	33,93	3,96	0,19	0,03
<b>Média</b>			0,25	0,00	0,00	2,00	0,39	14,76	2,39	0,09	0,02



Apêndice 5. Continuação...Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob déficit hídrico.

ACESSO	TRAT	REP	MSE	MSR	MSPA	MSTOTAL	A	g	Tr	EUA	NI
1	50%	1	0,02	0,06	0,07	0,13	6,56	0,17	1,65	3,98	0
1	50%	2	0,05	0,04	0,08	0,12	10,00	0,21	1,45	6,90	0
1	50%	3	0,03	0,04	0,03	0,07	3,11	0,58	3,37	0,92	0
1	50%	4	0,09	0,06	0,21	0,27	7,74	0,10	1,07	7,23	0
<b>Média</b>			0,04	0,05	0,10	0,15	6,85	0,27	1,89	4,76	0,00
2	50%	1	0,01	0,03	0,06	0,09	1,41	0,29	2,53	0,56	0
2	50%	2	0,02	0,03	0,04	0,07	5,32	0,23	7,83	3,02	0
2	50%	3	0,00	0,03	0,03	0,06	6,45	0,23	1,94	3,32	0
2	50%	4	0,01	0,03	0,03	0,06	8,10	0,16	1,56	5,19	0
<b>Média</b>			0,01	0,03	0,04	0,07	5,32	0,22	3,47	3,02	0,00
10	50%	1	0,07	0,12	0,23	0,35	8,68	0,41	3,15	2,76	0
10	50%	2	0,02	0,02	0,06	0,08	8,83	0,57	3,59	2,46	0
10	50%	3	0,02	0,03	0,08	0,11	11,20	0,14	1,37	8,18	0
10	50%	4	0,01	0,03	0,05	0,07	0,66	0,24	2,16	0,30	0
<b>Média</b>			0,03	0,05	0,10	0,15	7,34	0,34	2,57	3,42	0,00
17	50%	1	0,18	0,18	0,30	0,48	8,99	0,13	1,06	8,48	0
17	50%	2	0,18	0,12	0,32	0,44	15,10	0,27	1,99	7,59	1
17	50%	3	0,22	0,16	0,50	0,66	12,00	0,12	1,28	9,38	0
17	50%	4	0,27	0,27	0,61	0,88	4,38	0,11	1,09	4,02	0
<b>Média</b>			0,21	0,18	0,43	0,62	10,12	0,16	1,36	7,37	0,25
18	50%	1	0,17	0,08	0,29	0,36	8,42	0,12	1,15	7,32	0
18	50%	2	0,22	0,11	0,35	0,46	10,40	0,34	2,03	5,12	0
18	50%	3	0,20	0,21	0,29	0,49	2,73	0,07	0,85	3,22	0
18	50%	4	0,34	0,30	0,71	1,01	6,82	0,06	0,68	10,10	0
<b>Média</b>			0,23	0,17	0,41	0,58	7,09	0,15	1,18	6,44	0,00
20	50%	1	0,35	0,19	0,60	0,79	7,04	0,12	1,14	6,18	0
20	50%	2	0,12	0,05	0,20	0,26	7,35	0,11	0,99	7,44	0
20	50%	3	0,10	0,08	0,20	0,28	9,38	0,16	1,52	6,17	0
20	50%	4	0,12	0,07	0,26	0,33	11,40	0,30	2,62	4,35	0
<b>Média</b>			0,17	0,10	0,31	0,41	8,79	0,17	1,57	6,03	0,00
31	50%	1	0,07	0,06	0,12	0,18	8,85	0,09	0,81	10,91	0
31	50%	2	0,08	0,06	0,27	0,33	11,10	0,14	1,30	8,54	0
31	50%	3	0,07	0,10	0,15	0,26	11,00	0,19	1,59	6,92	0
31	50%	4	0,11	0,11	0,30	0,42	11,40	0,21	1,72	6,63	0
<b>Média</b>			0,08	0,09	0,21	0,30	10,59	0,16	1,36	8,25	0,00
35	50%	1									
35	50%	2	0,05	0,07	0,08	0,15	10,50	0,37	3,01	3,49	0
35	50%	3	0,07	0,09	0,15	0,23	13,00	0,22	1,98	6,57	0
35	50%	4	0,04	0,02	0,07	0,09	11,30	0,22	2,16	5,23	0
<b>Média</b>			0,05	0,06	0,10	0,16	11,60	0,27	2,38	5,10	0,00
38	50%	1	0,19	0,06	0,24	0,31	11,40	0,26	1,60	7,13	0
38	50%	2	0,08	0,13	0,20	0,33	7,72	0,41	3,32	2,33	0
38	50%	3	0,11	0,10	0,25	0,35	9,64	0,15	1,51	6,38	0
38	50%	4	0,11	0,11	0,28	0,39	11,50	0,34	2,40	4,79	0
<b>Média</b>			0,12	0,10	0,24	0,34	10,07	0,29	2,21	5,16	0,00

Apêndice 5. Continuação...Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob déficit hídrico.

ACESSO	TRAT	REP	MSE	MSR	MSPA	MSTOTAL	A	g	Tr	EUA	NI
39	50%	1	0,06	0,10	0,12	0,21	6,44	0,17	1,58	4,08	0
39	50%	2	0,02	0,04	0,07	0,12	13,70	0,35	2,75	4,98	0
39	50%	3	0,02	0,04	0,08	0,11	10,40	0,27	2,72	3,82	0
39	50%	4	0,05	0,04	0,14	0,18	9,22	0,21	2,05	4,50	0
<b>Média</b>			0,04	0,05	0,10	0,16	9,94	0,25	2,28	4,34	0,00
41	50%	1	0,19	0,14	0,35	0,49	12,00	0,18	1,74	6,90	0
41	50%	2	0,36	0,25	0,52	0,76	11,10	0,22	2,10	5,29	0
41	50%	3	0,20	0,23	0,33	0,56	7,85	0,09	1,04	7,55	0
41	50%	4	0,38	0,14	0,57	0,71	11,40	0,12	1,33	8,57	0
<b>Média</b>			0,28	0,19	0,44	0,63	10,59	0,15	1,55	7,08	0,00
44	50%	1	0,10	0,14	0,23	0,37	10,70	0,21	1,71	6,26	0
44	50%	2	0,31	0,19	0,50	0,69	6,94	0,22	1,86	3,73	0
44	50%	3	0,30	0,19	0,53	0,72	9,72	0,25	2,30	4,23	0
44	50%	4	0,35	0,19	0,51	0,70	13,30	0,26	2,00	6,65	0
<b>Média</b>			0,27	0,18	0,44	0,62	10,17	0,23	1,97	5,22	0,00
57	50%	1	0,22	0,15	0,36	0,51	16,10	0,27	2,43	6,63	0
57	50%	2	0,30	0,19	0,48	0,67	11,50	0,19	1,61	7,14	0
57	50%	3	0,13	0,08	0,20	0,28	10,80	0,19	1,85	5,84	0
57	50%	4	0,28	0,12	0,36	0,48	12,60	0,22	2,04	6,18	0
<b>Média</b>			0,23	0,13	0,35	0,48	12,75	0,22	1,98	6,45	0,00
67	50%	1	0,16	0,08	0,21	0,29	8,75	0,07	0,80	10,98	0
67	50%	2	0,02	0,02	0,07	0,09	10,10	0,16	1,63	6,20	0
67	50%	3	0,02	0,06	0,10	0,16	6,31	0,12	1,22	5,17	0
67	50%	4	0,15	0,16	0,42	0,58	9,64	0,14	1,38	6,99	0
<b>Média</b>			0,09	0,08	0,20	0,28	8,70	0,12	1,26	7,33	0,00
74	50%	1	0,16	0,19	0,30	0,49	8,62	0,26	1,71	5,04	0
74	50%	2	0,07	0,30	0,23	0,53	3,34	0,04	0,49	6,77	0
74	50%	3	0,35	0,27	0,65	0,92	0,93	0,02	0,23	4,03	0
74	50%	4	0,71	0,49	0,83	1,33	11,20	0,15	1,48	7,57	0
<b>Média</b>			0,32	0,31	0,50	0,82	6,02	0,12	0,98	5,85	0,00
75	50%	1	0,33	0,16	0,56	0,73	11,90	0,19	1,43	8,32	0
75	50%	2	0,26	0,11	0,56	0,67	10,10	0,13	1,22	8,28	0
75	50%	3	0,42	0,34	0,86	1,20	11,50	0,09	0,99	11,68	0
75	50%	4	0,26	0,20	0,63	0,83	12,40	0,20	1,69	7,34	0
<b>Média</b>			0,31	0,20	0,65	0,86	11,48	0,15	1,33	8,90	0,00
78	50%	1	0,24	0,17	0,51	0,68	2,90	0,03	0,31	9,48	0
78	50%	2	0,18	0,23	0,35	0,58	15,80	0,26	2,18	7,25	0
78	50%	3	0,32	0,22	0,66	0,88	15,80	0,28	2,14	7,38	0
78	50%	4	0,44	0,32	0,76	1,08	5,65	0,06	0,70	8,04	0
<b>Média</b>			0,29	0,23	0,57	0,80	10,04	0,16	1,33	8,04	0,00
79	50%	1	0,10	0,05	0,18	0,23	6,00	0,31	2,33	2,58	0
79	50%	2	0,02	0,05	0,06	0,11	12,50	0,22	1,52	8,22	0
79	50%	3	0,02	0,04	0,06	0,10	12,40	0,23	2,04	6,08	0
79	50%	4	0,15	0,10	0,34	0,45	10,40	0,27	2,54	4,09	0
<b>Média</b>			0,07	0,06	0,16	0,22	10,33	0,26	2,11	5,24	0,00

Apêndice 5. Continuação...Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob déficit hídrico.

ACESSO	TRAT	REP	MSI	MSPAtotal (2cortes)
1	50%	1		0,11
1	50%	2		0,16
1	50%	3		0,06
1	50%	4		0,38
<b>Média</b>				0,18
2	50%	1		0,12
2	50%	2		0,07
2	50%	3		0,04
2	50%	4		0,05
<b>Média</b>				0,07
10	50%	1		0,23
10	50%	2		0,08
10	50%	3		0,12
10	50%	4		0,07
<b>Média</b>				0,13
17	50%	1		0,48
17	50%	2	0,007	0,54
17	50%	3		0,66
17	50%	4		0,93
<b>Média</b>			0,01	0,65
18	50%	1		0,36
18	50%	2		0,70
18	50%	3		0,56
18	50%	4		0,98
<b>Média</b>				0,65
20	50%	1		0,89
20	50%	2		0,27
20	50%	3		0,30
20	50%	4		0,44
<b>Média</b>				0,48
31	50%	1		0,18
31	50%	2		0,45
31	50%	3		0,25
31	50%	4		0,38
<b>Média</b>				0,31
35	50%	1		
35	50%	2		0,08
35	50%	3		0,21
35	50%	4		0,09
<b>Média</b>				0,13
38	50%	1		0,29
38	50%	2		0,30
38	50%	3		0,34
38	50%	4		0,41
<b>Média</b>				0,33

Apêndice 5. Continuação...Valores obtidos para as 32 variáveis avaliadas em quatro repetições por acesso na segunda avaliação (Maio/2008) sob déficit hídrico.

ACESSO	TRAT	REP	MSI	MSPAtotal (2cortes)
39	50%	1		0,18
39	50%	2		0,10
39	50%	3		0,10
39	50%	4		0,17
<b>Média</b>				0,14
41	50%	1		0,50
41	50%	2		0,52
41	50%	3		0,49
41	50%	4		0,77
<b>Média</b>				0,57
44	50%	1		0,39
44	50%	2		0,84
44	50%	3		0,82
44	50%	4		0,71
<b>Média</b>				0,69
57	50%	1		0,49
57	50%	2		0,73
57	50%	3		0,81
57	50%	4		0,53
<b>Média</b>				0,64
67	50%	1		0,34
67	50%	2		0,09
67	50%	3		0,15
67	50%	4		0,62
<b>Média</b>				0,30
74	50%	1		0,46
74	50%	2		0,38
74	50%	3		0,80
74	50%	4		1,31
<b>Média</b>				0,73
75	50%	1		0,73
75	50%	2		0,69
75	50%	3		1,39
75	50%	4		0,92
<b>Média</b>				0,93
78	50%	1		0,74
78	50%	2		0,46
78	50%	3		0,91
78	50%	4		1,06
<b>Média</b>				0,79
79	50%	1		0,26
79	50%	2		0,09
79	50%	3		0,11
79	50%	4		0,48
<b>Média</b>				0,24

Apêndice 6. Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (Maio/2008).

The GLM Procedure  
Class Level Information

Class	Levels	Values
AC	18	1 2 10 17 18 20 31 35 38 39 41 44 57 67 74 75 78 79
TRAT	2	0.5 0.9
REP	4	1 2 3 4

Number of observations 144  
Dependent Variables With Equivalent  
Missing Value Patterns

Pattern	Obs	Dependent Variables
1	143	EST LAR HAB CP EP CF LF MSE NFV AF MSF NFS VR MSR
2	142	NES1
3	144	CES1médio NES4
4	141	NES2
5	142	NES3
6	142	NN
7	125	CEN
8	130	EEN
9	112	MSFS

Dependent Variable: EST

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	1620.509417	46.300269	11.99	<.0001
Error	107	413.086667	3.860623		
Corrected Total	142	2033.596084			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	EST Mean
0.796869	20.60071	1.964847	9.537762

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>461.744113</b>	<b>27.161418</b>	<b>7.04</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>1078.645902</b>	<b>1078.645902</b>	<b>279.40</b>	<b>&lt;.0001</b>
AC*TRAT	17	93.219553	5.483503	1.42	0.1412

Apêndice 6. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (Maio/2008).

Dependent Variable: LAR

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	16671.02063	476.31488	11.51	<.0001
Error	107	4426.93604	41.37323		
Corrected Total	142	21097.95667			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	LAR Mean
0.790172	24.71706	6.432203	26.02333

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	2731.17297	160.65723	3.88	<.0001
TRAT	1	12638.84393	12638.84393	305.48	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>1369.96491</b>	<b>80.58617</b>	<b>1.95</b>	<b>0.0211</b>

Dependent Variable: HAB

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	41.12937063	1.17512488	4.26	<.0001
Error	107	29.50000000	0.27570093		
Corrected Total	142	70.62937063			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	HAB Mean
0.582327	25.02845	0.525072	2.097902

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>34.08200000</b>	<b>2.00482353</b>	<b>7.27</b>	<b>&lt;.0001</b>
TRAT	1	0.68807339	0.68807339	2.50	0.1171
AC*TRAT	17	6.30200000	0.37070588	1.34	0.1800

Apêndice 6. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (Maio/2008).

Dependent Variable: CP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	2019.398333	57.697095	11.83	<.0001
Error	107	521.661667	4.875343		
Corrected Total	142	2541.060000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CP Mean
0.794707	21.23094	2.208018	10.40000

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	679.467833	39.968696	8.20	<.0001
TRAT	1	1193.425352	1193.425352	244.79	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>159.497553</b>	<b>9.382209</b>	<b>1.92</b>	<b>0.0231</b>

Dependent Variable: EP

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	0.03415000	0.00097571	3.62	<.0001
Error	107	0.02885000	0.00026963		
Corrected Total	142	0.06300000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	EP Mean
0.542063	14.92754	0.016420	0.110000

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>0.01611180</b>	<b>0.00094775</b>	<b>3.52</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>0.01198899</b>	<b>0.01198899</b>	<b>44.47</b>	<b>&lt;.0001</b>
AC*TRAT	17	0.00624500	0.00036735	1.36	0.1701

Apêndice 6. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (Maio/2008).

Dependent Variable: CF

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	19.16623881	0.54760682	9.40	<.0001
Error	107	6.23155000	0.05823879		
Corrected Total	142	25.39778881			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CF Mean
0.754642	17.92064	0.241327	1.346643

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>8.23326420</b>	<b>0.48430966</b>	<b>8.32</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>9.68635596</b>	<b>9.68635596</b>	<b>166.32</b>	<b>&lt;.0001</b>
AC*TRAT	17	1.47002220	0.08647189	1.48	0.1141

Dependent Variable: LF

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	16.19909528	0.46283129	9.69	<.0001
Error	107	5.11062500	0.04776285		
Corrected Total	142	21.30972028			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	LF Mean
0.760174	17.25213	0.218547	1.266783

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>4.45040500</b>	<b>0.26178853</b>	<b>5.48</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>10.81735665</b>	<b>10.81735665</b>	<b>226.48</b>	<b>&lt;.0001</b>
AC*TRAT	17	1.07937500	0.06349265	1.33	0.1887



Apêndice 6. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (Maio/2008).

Dependent Variable: MSE

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	9.52301213	0.27208606	5.45	<.0001
Error	107	5.33949917	0.04990186		
Corrected Total	142	14.86251130			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	MSE Mean
0.640740	69.79326	0.223387	0.320070

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>4.81820436</b>	<b>0.28342379</b>	<b>5.68</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>3.63147278</b>	<b>3.63147278</b>	<b>72.77</b>	<b>&lt;.0001</b>
AC*TRAT	17	1.08297263	0.06370427	1.28	0.2217

Dependent Variable: NFV

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	431009.7127	12314.5632	7.07	<.0001
Error	107	186348.9167	1741.5787		
Corrected Total	142	617358.6294			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NFV Mean
0.698151	70.94280	41.73223	58.82517

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	151213.9453	8894.9380	5.11	<.0001
TRAT	1	203500.9365	203500.9365	116.85	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>75879.8333</b>	<b>4463.5196</b>	<b>2.56</b>	<b>0.0018</b>

Apêndice 6. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (Maio/2008).

Dependent Variable: AF

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	3418708.841	97677.395	14.33	<.0001
Error	107	729366.066	6816.505		
Corrected Total	142	4148074.906			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	AF Mean		
0.824168	57.83030	82.56213	142.7662		

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	886018.301	52118.724	7.65	<.0001
TRAT	1	1900754.688	1900754.688	278.85	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>625468.803</b>	<b>36792.283</b>	<b>5.40</b>	<b>&lt;.0001</b>

Dependent Variable: MSF

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	51.37705927	1.46791598	13.64	<.0001
Error	107	11.51793725	0.10764427		
Corrected Total	142	62.89499652			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	MSF Mean		
0.816870	57.32368	0.328092	0.572350		

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	14.81429884	0.87142934	8.10	<.0001
TRAT	1	26.25111667	26.25111667	243.87	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>10.22800355</b>	<b>0.60164727</b>	<b>5.59</b>	<b>&lt;.0001</b>

Apêndice 6. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (Maio/2008).

Dependent Variable: NFS

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	7348.97552	209.97073	4.71	<.0001
Error	107	4765.50000	44.53738		
Corrected Total	142	12114.47552			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NFS Mean
0.606628	97.18224	6.673633	6.867133

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>5970.462000</b>	<b>351.203647</b>	<b>7.89</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>363.990826</b>	<b>363.990826</b>	<b>8.17</b>	<b>0.0051</b>
AC*TRAT	17	995.962000	58.586000	1.32	0.1970

Dependent Variable: VR

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	2101.508698	60.043106	7.26	<.0001
Error	107	885.453750	8.275269		
Corrected Total	142	2986.962448			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	VR Mean
0.703560	72.30245	2.876677	3.978671

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	355.843120	20.931948	2.53	0.0020
TRAT	1	1486.507156	1486.507156	179.63	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>255.053920</b>	<b>15.003172</b>	<b>1.81</b>	<b>0.0353</b>

Apêndice 6. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (Maio/2008).

Dependent Variable: MSR

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	8.74920183	0.24997720	8.16	<.0001
Error	107	3.27940742	0.03064867		
Corrected Total	142	12.02860924			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	MSR Mean
0.727366	61.70582	0.175068	0.283713

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	3.83572700	0.22563100	7.36	<.0001
TRAT	1	3.48388763	3.48388763	113.67	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>1.42602498</b>	<b>0.08388382</b>	<b>2.74</b>	<b>0.0009</b>

Dependent Variable: NES1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	622.744131	17.792689	4.88	<.0001
Error	106	386.833333	3.649371		
Corrected Total	141	1009.577465			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NES1 Mean
0.616836	40.60887	1.910333	4.704225

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>218.1475134</b>	<b>12.8322067</b>	<b>3.52</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>350.3030303</b>	<b>350.3030303</b>	<b>95.99</b>	<b>&lt;.0001</b>
AC*TRAT	17	48.6878360	2.8639904	0.78	0.7067

Apêndice 6. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (Maio/2008).

Dependent Variable: CES1médio

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	1311.689167	37.476833	4.99	<.0001
Error	108	811.188493	7.511005		
Corrected Total	143	2122.877660			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CES1médio Mean
0.617883	54.21255	2.740621	5.055326

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	582.7274898	34.2780876	4.56	<.0001
TRAT	1	497.8433365	497.8433365	66.28	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>231.1183406</b>	<b>13.5951965</b>	<b>1.81</b>	<b>0.0356</b>

Dependent Variable: NES4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	2.18750000	0.06250000	1.00	0.4813
Error	108	6.75000000	0.06250000		
Corrected Total	143	8.93750000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NES4 Mean
0.244755	1200.000	0.250000	0.020833

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	1.06250000	0.06250000	1.00	0.4642
TRAT	1	0.06250000	0.06250000	1.00	0.3195
AC*TRAT	17	1.06250000	0.06250000	1.00	0.4642

Apêndice 6. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (Maio/2008).

Dependent Variable: NES2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	11762.24468	336.06413	7.00	<.0001
Error	105	5038.83333	47.98889		
Corrected Total	140	16801.07801			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NES2 Mean
0.700089	79.54101	6.927401	8.709220

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	3909.034262	229.943192	4.79	<.0001
TRAT	1	6270.345345	6270.345345	130.66	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>1841.860046</b>	<b>108.344709</b>	<b>2.26</b>	<b>0.0063</b>

Dependent Variable: NES3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	2834.265258	80.979007	3.31	<.0001
Error	106	2590.333333	24.437107		
Corrected Total	141	5424.598592			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NES3 Mean
0.522484	271.0276	4.943390	1.823944

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	1199.866551	70.580385	2.89	0.0005
TRAT	1	526.936364	526.936364	21.56	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>1199.866551</b>	<b>70.580385</b>	<b>2.89</b>	<b>0.0005</b>

Apêndice 6. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (Maio/2008).

Dependent Variable: NN

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	3487.091549	99.631187	7.37	<.0001
Error	106	1433.000000	13.518868		
Corrected Total	141	4920.091549			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NN Mean
0.708745	32.40880	3.676801	11.34507

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>1966.835253</b>	<b>115.696191</b>	<b>8.56</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>1237.336364</b>	<b>1237.336364</b>	<b>91.53</b>	<b>&lt;.0001</b>
AC*TRAT	17	258.517281	15.206899	1.12	0.3407

Dependent Variable: CEN

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	34	17.20332000	0.50598000	3.14	<.0001
Error	90	14.51000000	0.16122222		
Corrected Total	124	31.71332000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CEN Mean
0.542464	40.92182	0.401525	0.981200

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AC	17	8.10788777	0.47693457	2.96	0.0005
TRAT	1	3.87023622	3.87023622	24.01	<.0001
<b>AC*TRAT</b>	<b>16</b>	<b>6.64801491</b>	<b>0.41550093</b>	<b>2.58</b>	<b>0.0025</b>

Apêndice 6. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (Maio/2008).

Dependent Variable: EEN

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	34	0.23895256	0.00702802	5.64	<.0001
Error	95	0.11846667	0.00124702		
Corrected Total	129	0.35741923			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	EEN Mean
0.668550	17.82799	0.035313	0.198077

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>0.18625469</b>	<b>0.01095616</b>	<b>8.79</b>	<b>&lt;.0001</b>
TRAT	1	0.00202381	0.00202381	1.62	0.2058
AC*TRAT	16	0.02593953	0.00162122	1.30	0.2134

Dependent Variable: MSFS

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	34	0.19899821	0.00585289	3.63	<.0001
Error	77	0.12420250	0.00161302		
Corrected Total	111	0.32320071			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	MSFS Mean
0.615711	70.94937	0.040162	0.056607

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>AC</b>	<b>17</b>	<b>0.11126748</b>	<b>0.00654515</b>	<b>4.06</b>	<b>&lt;.0001</b>
<b>TRAT</b>	<b>1</b>	<b>0.03598379</b>	<b>0.03598379</b>	<b>22.31</b>	<b>&lt;.0001</b>
AC*TRAT	16	0.03016400	0.00188525	1.17	0.3118



Apêndice 6. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (Maio/2008).

Dependent Variable: AF1folha

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	133.1386827	3.8039624	7.72	<.0001
Error	107	52.6981621	0.4925062		
Corrected Total	142	185.8368448			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	AF1folha Mean
0.716428	37.83601	0.701788	1.854815

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ACESSO	17	43.22358275	2.54256369	5.16	<.0001
TRAT	1	75.79773071	75.79773071	153.90	<.0001
<b>ACESSO*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>14.76571644</b>	<b>0.86857156</b>	<b>1.76</b>	<b>0.0424</b>

Dependent Variable: NEStotal

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	27977.90152	799.36861	6.14	<.0001
Error	107	13921.91667	130.11137		
Corrected Total	142	41899.81818			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NEStotal Mean
0.667733	75.58615	11.40664	15.09091

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ACESSO	17	9997.12133	588.06596	4.52	<.0001
TRAT	1	13647.26682	13647.26682	104.89	<.0001
<b>ACESSO*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>4334.72133</b>	<b>254.98361</b>	<b>1.96</b>	<b>0.0202</b>

Apêndice 6. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (Maio/2008).

Dependent Variable: Photo

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	954.522967	27.272085	2.04	0.0029
Error	106	1418.541120	13.382463		
Corrected Total	141	2373.064087			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Photo Mean
0.402232	33.40087	3.658205	10.95242

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>ACESSO</b>	<b>17</b>	<b>437.9440314</b>	<b>25.7614136</b>	<b>1.93</b>	<b>0.0232</b>
<b>TRAT1</b>	<b>1</b>	<b>360.6692728</b>	<b>360.6692728</b>	<b>26.95</b>	<b>&lt;.0001</b>
ACESSO*TRAT1	17	163.0710968	9.5924175	0.72	0.7796

Dependent Variable: g

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	2.64479087	0.07556545	5.68	<.0001
Error	106	1.40937319	0.01329597		
Corrected Total	141	4.05416406			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	g Mean
0.652364	36.09003	0.115308	0.319501

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ACESSO	17	0.35891605	0.02111271	1.59	0.0802
TRAT1	1	1.83880120	1.83880120	138.30	<.0001
<b>ACESSO*TRAT1</b>	<b>17</b>	<b>0.41079981</b>	<b>0.02416469</b>	<b>1.82</b>	<b>0.0349</b>

Apêndice 6. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (Maio/2008).

Dependent Variable: Tr

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	152.9677373	4.3705068	8.51	<.0001
Error	106	54.4449622	0.5136317		
Corrected Total	141	207.4126995			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Trmmol Mean
0.737504	26.83689	0.716681	2.670507

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ACESSO	17	14.1330918	0.8313583	1.62	0.0720
TRAT1	1	121.1309227	121.1309227	235.83	<.0001
<b>ACESSO*TRAT1</b>	<b>17</b>	<b>15.3968483</b>	<b>0.9056970</b>	<b>1.76</b>	<b>0.0426</b>

Dependent Variable: EUA

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	422.1069539	12.0601987	3.80	<.0001
Error	106	336.7331725	3.1767280		
Corrected Total	141	758.8401264			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	WUE_ Mean
0.556253	36.53036	1.782338	4.879058

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ACESSO	17	141.9693934	8.3511408	2.63	0.0014
TRAT	1	181.2940257	181.2940257	57.07	<.0001
<b>ACESSO*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>92.5171323</b>	<b>5.4421843</b>	<b>1.71</b>	<b>0.0513</b>

Apêndice 6. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (Maio/2008).

Dependent Variable: MSPA

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	100.1718914	2.8620540	11.11	<.0001
Error	107	27.5618694	0.2575876		
Corrected Total	142	127.7337608			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	MSPA Mean
0.784224	56.87133	0.507531	0.892420

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ACESSO	17	34.35682850	2.02098991	7.85	<.0001
TRAT	1	49.41002817	49.41002817	191.82	<.0001
<b>ACESSO*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>16.32140583</b>	<b>0.96008270</b>	<b>3.73</b>	<b>&lt;.0001</b>

Dependent Variable: MSTOTAL

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	164.7960760	4.7084593	10.96	<.0001
Error	107	45.9646293	0.4295760		
Corrected Total	142	210.7607053			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	MSTOTAL Mean
0.781911	55.72442	0.655420	1.176182

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ACESSO	17	59.62135303	3.50713841	8.16	<.0001
TRAT	1	79.12393503	79.12393503	184.19	<.0001
<b>ACESSO*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>25.92819737</b>	<b>1.52518808</b>	<b>3.55</b>	<b>&lt;.0001</b>

Apêndice 6. Continuação...Análise da Variância dos dados morfofisiológicos de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (Maio/2008).

Dependent Variable: MSPAtotal(2cortes)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	35	191.8360375	5.4810296	15.03	<.0001
Error	107	39.0185999	0.3646598		
Corrected Total	142	230.8546375			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	MSPAtotal_2cortes_ Mean
0.830982	49.23345	0.603871	1.226545

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ACESSO	17	72.53461146	4.26674185	11.70	<.0001
TRAT	1	86.28778151	86.28778151	236.63	<.0001
<b>ACESSO*TRAT</b>	<b>17</b>	<b>32.87509588</b>	<b>1.93382917</b>	<b>5.30</b>	<b>&lt;.0001</b>

Apêndice 7. Correlações simples entre as variáveis: estatura (EST), largura (LAR), hábito de crescimento (HAB), número de folhas vivas (NFV), matéria seca de folhas vivas (MSF), número de folhas senescentes (NFS), matéria seca de folha senescente (MSFS), comprimento do maior pecíolo (CP), comprimento do folíolo central (CF), largura do folíolo central (LF), área foliar total (AF), número de estolões primários (NES1), comprimento médio de estolão (CES), número de nós/estolão (NN), número de estolões secundários (NES2), número de inflorescências (NI), condutância estomática (g), transpiração (Tr), matéria seca da parte aérea (MSPA), número total de estolões (NEStotal), área foliar de uma folha (AFfolha), matéria seca do excesso de estolão (MSEexc) de 18 acessos de trevo branco para a primeira avaliação (abril/2008) sob alta disponibilidade hídrica.

	EST	LAR	HAB	NFV	MSF	NFS	MSFS	CP	CF	LF	AF	NES1	CES	NES2	NN	NI	g	Tr	MSPA	NEStotal	AFfolha	MSEexc
EST																						
LAR	0,46**																					
HAB	0,15	-0,49**																				
NFV	-0,04	0,55**	-0,51**																			
MSF	0,49**	0,77**	-0,41**	0,69**																		
NFS	-0,08	0,15	-0,25*	0,36**	0,13																	
MSFS	0,29*	0,47**	-0,28*	0,29*	0,46**	0,63**																
CP	0,90**	0,47**	0,18	-0,09	0,41**	-0,09	0,25*															
CF	0,77**	0,48**	-0,05	0,01	0,50**	-0,05	0,35**	0,76**														
LF	0,75**	0,46**	0,04	-0,03	0,47**	-0,06	0,29*	0,77**	0,88**													
AF	0,38**	0,77**	-0,46**	0,79**	0,96**	0,23	0,44**	0,32**	0,41**	0,38**												
NES1	-0,12	0,43**	-0,49**	0,84**	0,58**	0,36**	0,23*	-0,2	-0,08	-0,12	0,66**											
CES	0,13	0,75**	-0,63**	0,59**	0,67**	0,07	0,33**	0,09	0,2	0,14	0,66**	0,44**										
NES2	0,07	0,54**	-0,47**	0,71**	0,58**	0,36**	0,4**	0,02	0,1	0,08	0,63**	0,53**	0,50**									
NN	-0,04	0,61**	-0,64**	0,74**	0,63**	0,36**	0,39**	-0,1	0	-0,03	0,68**	0,69**	0,76**	0,55**								
NI	0,2	0,30**	-0,17	0,29*	0,23	0,02	0,01	0,14	0,08	-0,05	0,27*	0,30**	0,17	0,36**	0,17							
g	0,31**	0,06	0,2	-0,02	0,17	-0,03	0,14	0,29*	0,42**	0,41**	0,09	-0,06	-0,03	-0,09	-0,2	0,05						
Tr	0,16	-0,03	0,14	-0,06	0,07	-0,04	0,09	0,15	0,31**	0,29*	0,01	-0,12	0,03	-0,14	-0,1	-0,08	0,83**					
MSPA	0,48**	0,77**	-0,4**	0,69**	1**	0,12	0,45**	0,40**	0,49**	0,46**	0,96**	0,57**	0,67**	0,58**	0,63**	0,22	0,18	0,08				
NEStotal	-0,04	0,55**	-0,55**	0,89**	0,66**	0,41**	0,35**	-0,11	0	-0,03	0,74**	0,90**	0,53**	0,85**	0,72**	0,38**	-0,08	-0,14	0,66**			
AFfolha	0,78**	0,46**	0,01	-0,04	0,51**	-0,09	0,32**	0,79**	0,96**	0,96**	0,4	-0,12	0,16	0,07	-0,02	0,00	0,43**	0,33**	0,50**	-0,04		
MSEexc	0,24*	0,55**	-0,28*	0,46**	0,60**	-0,08	0,18	0,15	0,2	0,19	0,60**	0,29*	0,65**	0,37**	0,49**	-0,02	-0,02	0,03	0,62**	0,37**	0,2	

\*\* Significativo a 1% de probabilidade pela estatística t (P = 0,01).

\* Significativo a 5% de probabilidade pela estatística t (P = 0,05).

Apêndice 8. Correlações simples entre as variáveis: estatura (EST), largura (LAR), hábito de crescimento (HAB), número de folhas vivas (NFV), matéria seca de folhas vivas (MSF), número de folhas senescentes (NFS), matéria seca de folha senescente (MSFS), comprimento do maior pecíolo (CP), comprimento do folíolo central (CF), largura do folíolo central (LF), área foliar total (AF), número de estolões primários (NES1), comprimento médio de estolão (CES), número de nós/estolão (NN), número de estolões secundários (NES2), número de inflorescências (NI), condutância estomática (g), transpiração (Tr), matéria seca da parte aérea (MSPA), número total de estolões (NEStotal), área foliar de uma folha (AFfolha) de 18 acessos de trevo branco para a primeira avaliação (abril/2008) sob déficit hídrico.

	EST	LAR	HAB	NFV	MSF	NFS	MSFS	CP	CF	LF	AF	NES1	CES	NES2	NN	NI	g	Tr	MSPA	NEStotal	AFfolha	
EST																						
LAR	0,19																					
HAB	0,12	-0,76**																				
NFV	-0,15	0,63**	-0,70**																			
MSF	0,2	0,70**	-0,54**	0,64**																		
NFS	0,08	0,67**	-0,70**	0,71**	0,66**																	
MSFS	0,31**	0,63**	-0,49**	0,47**	0,58**	0,78**																
CP	0,71**	0,36**	-0,05	-0,14	0,16	0	0,22															
CF	0,69**	0,22	-0,03	-0,14	0,23	0,17	0,36**	0,63**														
LF	0,59**	0,22	-0,06	-0,12	0,16	0,14	0,33**	0,60**	0,80**													
AF	0,24*	0,77**	-0,60**	0,79**	0,80**	0,67**	0,63**	0,25*	0,29*	0,26*												
NES1	-0,13	0,56**	-0,64**	0,63**	0,56**	0,63**	0,47**	-0,15	-0,03	-0,05	0,53**											
CES	0,05	0,78**	-0,77**	0,72**	0,62**	0,75**	0,66**	0,06	0,06	0,03	0,70**	0,63**										
NES2	0,01	0,43**	-0,49**	0,13	0,39**	0,50**	0,47**	0,07	0,02	0,06	0,60**	0,17	0,54**									
NN	-0,06	0,43**	-0,54**	0,72**	0,38**	0,61**	0,48**	-0,12	0,02	-0,05	0,53**	0,59**	0,67**	0,49**								
NI	0	0,18	-0,21	0,16	0,02	0,04	0,06	-0,06	-0,03	0,06	0,12	0,12	0,15	0,1	0,27*							
g	-0,12	0,09	-0,09	0,07	0	0,07	0,19	-0,09	0	0,02	0,17	-0,08	0,11	0,21	0,06	0,21						
Tr	0	-0,02	0,04	0,05	-0,08	0,04	0,15	-0,07	0,13	0,14	0,04	-0,19	-0,07	0,09	-0,02	0,17	0,86**					
MSPA	0,19	0,66**	-0,51**	0,60**	0,98**	0,64**	0,56**	0,17	0,24*	0,14	0,77**	0,54**	0,60**	0,37**	0,33**	-0,14	-0,03	-0,11				
NEStotal	-0,08	0,66**	-0,75**	0,81**	0,63**	0,75**	0,61**	-0,06	-0,01	0,01	0,74**	0,80**	0,77**	0,73**	0,71**	0,15	0,07	-0,07	0,60**			
AFfolha	0,68**	0,23	-0,03	-0,14	0,19	0,15	0,35**	0,65**	0,93**	0,95**	0,28*	-0,06	0,04	0,04	-0,02	0,00	0,01	0,14	0,19	-0,02		

\*\* Significativo a 1% de probabilidade pela estatística t (P = 0,01).

\* Significativo a 5% de probabilidade pela estatística t (P = 0,05).

Apêndice 9. Correlações simples entre as variáveis: estatura (EST), largura (LAR), hábito de crescimento (HAB), comprimento do maior pecíolo (CP), espessura do maior pecíolo (EP), comprimento médio de estolão (CES), número de nós/estolão (NN), matéria seca de estolão (MSE), número de folhas vivas (NFV), área foliar total (AF), matéria seca de folhas vivas (MSF), número de folhas senescentes (NFS), matéria seca de folha senescente (MSFS), volume de raiz (VR), matéria seca de raiz (MSR), taxa fotossintética (A), condutância estomática (g), transpiração (Tr), eficiência do uso da água (EUA), matéria seca da parte aérea (MSPA), número total de estolões (NEStotal), área foliar do folíolo central (AFfolha), matéria seca total (MStotal) de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (maio/2008) sob alta disponibilidade hídrica.

	EST	LAR	HAB	CP	EP	CES	NN	MSE	NFV	AF	MSF	NFS	MSFS	VR	MSR	A	g	Tr	EUA	MSPA	NEStotal	MStotal	
EST																							
LAR	0,31**																						
HAB	0,58**	-0,01																					
CP	0,82**	0,22	0,61**																				
EP	0,44**	0,23*	0,38**	0,56**																			
CES	-0,17	0,58**	-0,38**	-0,32**	-0,07																		
NN	-0,24*	0,27*	-0,26*	-0,42**	-0,13	0,36**																	
MSE	0,09	0,57**	-0,12	-0,09	0,00	0,40**	0,36**																
NFV	-0,14	0,38**	-0,26*	-0,34**	-0,21	0,34**	0,48**	0,78**															
AF	0,29**	0,53**	0,06	0,11	0,17	0,33**	0,40**	0,75**	0,69**														
MSF	0,36**	0,61**	0,08	0,20	0,23*	0,34**	0,34**	0,77**	0,65**	0,96**													
NFS	-0,17	0,24*	-0,30**	-0,34**	-0,2	0,23*	0,42**	0,57**	0,73**	0,45**	0,35**												
MSFS	0,12	0,44**	-0,15	-0,05	0,04	0,31**	0,39**	0,63**	0,58**	0,66**	0,62**	0,82**											
VR	0,11	0,45**	-0,09	-0,04	0,11	0,34**	0,34**	0,63**	0,67**	0,80**	0,76**	0,46**	0,55**										
MSR	0,19	0,47**	-0,02	0,02	0,10	0,34**	0,35**	0,72**	0,65**	0,92**	0,88**	0,42**	0,61**	0,89**									
A	-0,27*	0,11	-0,31**	-0,22	-0,11	0,14	0,24*	0,02	0,00	-0,16	-0,10	-0,04	-0,08	-0,06	-0,10								
g	0,08	-0,10	0,28**	0,18	0,27*	-0,21	-0,14	-0,05	-0,12	0,06	0,07	-0,11	-0,10	-0,00	0,06	-0,03							
Tr	0,05	-0,21	0,27*	0,19	0,17	-0,30*	-0,19	-0,15	-0,23*	-0,11	-0,09	-0,17	-0,20	-0,13	-0,09	0,00	0,92**						
EUA	-0,17	0,19	-0,33**	-0,24*	-0,20	0,26*	0,24*	0,17	0,21	0,00	0,04	0,07	0,08	0,08	0,02	0,64**	-0,65**	-0,70**					
MSPA	0,27*	0,63**	0,02	0,10	0,16	0,38**	0,37**	0,90**	0,73**	0,94**	0,97**	0,45**	0,66**	0,75**	0,87**	-0,07	0,03	-0,11	0,09				
NEStotal	-0,15	0,37**	-0,28*	-0,30**	-0,20	0,33**	0,45**	0,75**	0,88**	0,63**	0,62**	0,63**	0,53**	0,65**	0,62**	0,12	-0,23*	-0,32**	0,33**	0,70**			
MStotal	0,26*	0,61**	0,01	0,08	0,15	0,38**	0,37**	0,88**	0,73**	0,96**	0,97**	0,46**	0,66**	0,81**	0,92**	-0,08	0,03	-0,11	0,07	0,99*	0,70**		

\*\* Significativo a 1% de probabilidade pela estatística t (P = 0,01).

\* Significativo a 5% de probabilidade pela estatística t (P = 0,05).



Apêndice 10. Correlações simples entre as variáveis: estatura (EST), largura (LAR), hábito de crescimento (HAB), comprimento do maior pecíolo (CP), espessura do maior pecíolo (EP), comprimento médio de estolão (CES), número de nós/estolão (NN), matéria seca de estolão (MSE), número de folhas vivas (NFV), área foliar total (AF), matéria seca de folhas vivas (MSF), número de folhas senescentes (NFS), matéria seca de folha senescente (MSFS), volume de raiz (VR), matéria seca de raiz (MSR), taxa fotossintética (A), condutância estomática (g), transpiração (Tr), eficiência do uso da água (EUA), matéria seca da parte aérea (MSPA), número total de estolões (NEStotal), área foliar do folíolo central (AFfolha), matéria seca total (MStotal) de 18 acessos de trevo branco para a segunda avaliação (maio/2008) sob déficit hídrico.

50%	EST	LAR	HAB	CP	EP	CES	NN	MSE	NFV	AF	MSF	NFS	MSFS	VR	MSR	A	g	Tr	EUA	MSPA	NEStotal	MStotal	
EST																							
LAR	0,40**																						
HAB	0,56**	-0,18																					
CP	0,76**	0,58**	0,50**																				
EP	0,39**	0,31**	0,28*	0,49**																			
CES	-0,02	0,57**	-0,56**	-0,06	-0,04																		
NN	0,06	0,54**	0,63**	-0,09	-0,17	0,74**																	
MSE	0,14	0,64**	-0,43**	0,03	0,16	0,66**	0,65**																
NFV	-0,12	0,50**	-0,56**	-0,20	-0,05	0,60**	0,69**	0,80**															
AF	0,35**	0,64**	-0,19	0,27*	0,34**	0,41**	0,54**	0,83**	0,74**														
MSF	0,34**	0,63**	-0,18	0,26*	0,22	0,40**	0,52**	0,68**	0,63**	0,83**													
NFS	-0,17	0,36**	-0,42**	-0,11	-0,06	0,51**	0,56**	0,40**	0,50**	0,25*	0,23*												
MSFS	0,02	0,43**	-0,31**	0,06	0,08	0,49**	0,49**	0,46**	0,38**	0,30**	0,33**	0,87**											
VR	0,16	0,46**	-0,27*	0,03	0,16	0,42**	0,45**	0,80**	0,73**	0,79**	0,68**	0,30**	0,36**										
MSR	0,15	0,51**	-0,31**	0,04	0,22	0,46**	0,45**	0,85**	0,78**	0,84**	0,70**	0,32**	0,37**	0,89**									
A	0,01	0,21	-0,27*	-0,03	-0,01	0,23*	0,32**	0,14	0,21	0,13	0,07	0,05	0,04	0,02	-0,01								
g	-0,20	-0,27*	-0,05	-0,22	-0,26*	-0,21	-0,15	-0,33**	-0,23*	-0,32**	-0,37**	-0,10	-0,17	-0,40**	-0,38**	0,21							
Tr	-0,15	-0,22	0,02	-0,10	-0,24*	-0,22	-0,20	-0,33**	-0,24*	-0,32**	-0,37**	-0,09	-0,13	-0,41**	-0,37**	0,10	0,68**						
EUA	0,26*	0,36**	-0,06	0,21	0,30*	0,24*	0,25*	0,40**	0,26*	0,40**	0,42**	-0,03	0,07	0,39**	0,34**	0,43**	-0,61**	-0,56**					
MSPA	0,25*	0,70**	-0,35**	0,14	0,20	0,60**	0,65**	0,94**	0,79**	0,90**	0,89**	0,36**	0,44**	0,82**	0,85**	0,12	-0,38**	-0,38**	0,45**				
NEStotal	-0,11	0,52**	-0,60**	-0,19	-0,04	0,66**	0,70**	0,80**	0,93**	0,68**	0,57**	0,59**	0,50**	0,68**	0,75**	0,28*	-0,15	-0,17	0,23*	0,77**			
MStotal	0,22	0,66**	-0,35**	0,12	0,22	0,58**	0,61**	0,94**	0,82**	0,91**	0,86**	0,36**	0,43**	0,87**	0,93**	0,08	-0,39**	-0,39**	0,43**	0,99**	0,78**		

\*\* Significativo a 1% de probabilidade pela estatística t (P = 0,01).

\* Significativo a 5% de probabilidade pela estatística t (P = 0,05).



Apêndice 11. Continuação...Matriz de distância genética entre 47 acessos de trevo branco baseada no coeficiente de Nei (1972) para os dados isoenzimáticos.

	21	23	24	26	28	29	32	33	34	35	37	38	39	41	42	43	46
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	
7																	
8																	
9																	
10																	
11																	
13																	
14																	
15																	
17																	
18																	
19																	
20																	
21	0,00																
23	0,40	0,00															
24	0,29	0,11	0,00														
26	0,69	0,40	0,29	0,00													
28	1,39	0,80	0,69	1,39	0,00												
29	1,39	0,00	0,00	0,00	1,39	0,00											
32	0,55	1,35	1,24	1,24	1,24	0,55	0,00										
33	0,69	1,50	1,39	1,39	1,39	1,39	0,55	0,00									
34	0,55	0,26	0,14	0,55	0,55	0,00	1,10	1,24	0,00								
35	0,69	0,80	0,69	1,39	1,39	1,39	1,24	0,69	0,55	0,00							
37	0,40	0,51	0,40	0,40	1,50	0,00	1,35	0,80	0,66	0,40	0,00						
38	0,11	0,51	0,40	0,80	1,50	0,80	0,66	0,80	0,66	0,40	0,51	0,00					
39	0,69	0,40	0,69	0,69	1,39	0,00	1,24	1,39	0,55	0,69	0,40	0,80	0,00				
41	0,90	1,01	0,90	0,49	1,59	1,59	1,45	0,90	1,45	0,90	0,60	0,60	0,90	0,00			
42	1,24	0,66	0,55	0,55	0,55	0,00	1,10	0,55	0,41	1,24	1,35	1,35	1,24	0,75	0,00		
43	0,69	0,40	0,69	0,69	0,00	1,39	1,24	1,39	1,24	0,69	0,80	0,40	0,69	0,49	1,24	0,00	
46	1,24	0,66	0,55	0,14	1,24	0,00	1,10	1,24	0,41	1,24	0,66	1,35	0,55	0,75	0,41	1,24	0,00
47	0,55	0,66	0,55	0,55	0,00	0,00	1,10	1,24	1,10	1,24	0,66	0,66	1,24	0,75	1,10	0,55	1,10
48	1,39	0,40	0,69	0,69	1,39	0,00	0,00	1,39	1,24	1,39	0,80	1,50	1,39	1,59	1,24	0,69	1,24
56	0,00	1,50	1,39	1,39	0,69	0,69	1,24	0,00	1,24	1,39	0,00	1,50	0,00	1,59	1,24	1,39	1,24
58	0,55	0,66	0,55	0,55	1,24	0,00	1,10	0,55	1,10	1,24	0,66	0,66	1,24	0,35	0,41	0,55	1,10
59	0,69	0,40	0,69	0,69	0,00	0,00	1,24	0,69	1,24	0,69	0,40	0,80	0,69	0,90	1,24	0,29	1,24
62	1,39	0,40	0,69	0,69	0,69	0,00	1,24	0,69	0,55	1,39	1,50	1,50	0,69	0,90	0,14	0,69	0,55
67	0,20	0,60	0,49	0,90	0,90	0,90	0,75	0,49	0,75	0,90	0,60	0,31	0,90	0,69	0,75	0,90	1,45
68	1,04	0,46	0,35	1,04	0,35	0,00	0,00	0,00	0,20	1,04	1,15	1,15	1,04	0,00	0,90	0,00	0,90
69	0,90	0,60	0,49	0,49	1,59	0,00	1,45	0,90	0,75	0,90	0,60	1,01	1,59	1,10	0,75	0,90	0,75
73	0,29	0,40	0,69	0,69	0,00	1,39	0,55	0,69	1,24	1,39	0,80	0,40	0,69	0,90	1,24	0,29	1,24
74	0,63	0,46	0,63	1,04	0,63	1,04	0,90	0,35	0,49	0,35	0,75	0,46	0,63	0,84	0,49	0,63	0,90
75	0,69	0,80	0,69	0,69	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,80	0,80	0,00	0,90	0,00	0,69	0,00
78	0,69	0,80	1,39	1,39	1,39	0,69	0,55	1,39	0,00	0,00	1,50	0,80	1,39	1,59	0,00	0,69	0,00
Média	0,72	0,63	0,66	0,79	0,90	0,49	0,92	0,79	0,75	0,87	0,77	0,89	0,88	0,88	0,74	0,68	0,90

Apêndice 11. Continuação...Matriz de distância genética entre 47 acessos de trevo branco baseada no coeficiente de Nei (1972) para os dados isoenzimáticos.

	47	48	56	58	59	62	67	68	69	73	74	75	78
1													
2													
3													
4													
5													
7													
8													
9													
10													
11													
13													
14													
15													
17													
18													
19													
20													
21													
23													
24													
26													
28													
29													
32													
33													
34													
35													
37													
38													
39													
41													
42													
43													
46													
47	0,00												
48	1,24	0,00											
56	0,00	1,39	0,00										
58	0,41	1,24	0,00	0,00									
59	0,55	0,29	0,00	0,55	0,00								
62	1,24	0,69	1,39	0,55	0,69	0,00							
67	0,75	1,59	0,00	0,35	0,90	0,90	0,00						
68	0,00	1,04	1,04	0,00	0,00	1,04	1,24	0,00					
69	0,75	0,49	1,59	0,75	0,49	0,90	1,10	1,24	0,00				
73	0,55	0,69	0,00	0,55	0,29	0,69	0,49	0,00	0,90	0,00			
74	1,59	0,63	1,04	0,90	0,63	0,35	0,55	0,69	0,84	0,63	0,00		
75	0,55	0,69	0,00	0,55	0,69	0,00	0,90	0,00	0,90	0,69	0,00	0,00	
78	1,24	0,69	1,39	1,24	0,69	1,39	0,90	0,00	1,59	0,29	1,04	0,69	0,00
Média	0,74	0,86	0,64	0,60	0,55	0,75	0,86	0,39	1,05	0,54	0,52	0,69	

Apêndice 12. Matriz de distância genética entre 81 acessos de trevo branco baseada no coeficiente de Nei (1972) para os dados de microssatélites.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	
1	0,00																											
2	0,63	0,00																										
3	0,41	0,65	0,00																									
4	0,77	0,83	0,55	0,00																								
5	0,90	0,75	0,56	0,55	0,00																							
6	0,62	0,63	0,45	0,86	0,45	0,00																						
7	0,78	0,78	0,74	0,80	0,65	0,81	0,00																					
8	0,62	0,67	0,62	0,81	0,48	0,28	0,98	0,00																				
9	0,68	0,47	0,54	0,77	0,42	0,49	0,64	0,53	0,00																			
10	0,94	0,80	0,97	1,07	0,52	0,93	0,89	0,60	0,51	0,00																		
11	0,51	0,63	0,44	0,87	0,73	0,57	0,72	0,57	0,42	0,85	0,00																	
12	0,84	0,56	0,74	0,80	0,57	0,43	0,64	0,42	0,29	0,49	0,62	0,00																
13	0,57	0,45	0,59	0,66	0,48	0,34	0,77	0,40	0,46	0,63	0,47	0,61	0,00															
14	0,58	0,60	0,50	0,57	0,44	0,63	0,52	0,80	0,42	0,80	0,45	0,68	0,60	0,00														
15	0,46	0,50	0,35	0,64	0,52	0,37	0,67	0,56	0,50	1,10	0,59	0,85	0,34	0,40	0,00													
16	0,64	0,60	0,44	0,57	0,44	0,57	0,68	0,56	0,42	0,62	0,59	0,60	0,48	0,39	0,52	0,00												
17	0,78	0,65	0,56	0,41	0,47	0,80	0,55	0,74	0,54	0,57	0,92	0,55	0,52	0,67	0,58	0,36	0,00											
18	0,64	0,63	0,57	0,77	0,81	0,71	0,82	0,83	0,80	1,10	1,01	0,94	0,54	0,67	0,52	0,67	0,54	0,00										
19	0,78	0,73	0,61	0,53	0,27	0,44	0,41	0,53	0,46	0,75	0,63	0,48	0,46	0,37	0,44	0,48	0,45	0,55	0,00									
20	0,63	0,60	0,50	0,64	0,37	0,46	0,45	0,63	0,31	0,48	0,51	0,39	0,37	0,44	0,46	0,38	0,44	0,61	0,40	0,00								
21	0,63	0,39	0,38	0,66	0,33	0,57	0,53	0,40	0,40	0,59	0,41	0,63	0,40	0,38	0,40	0,35	0,54	0,53	0,26	0,40	0,00							
22	0,76	0,71	0,52	0,75	0,30	0,42	0,54	0,45	0,33	0,64	0,54	0,39	0,56	0,41	0,54	0,47	0,43	0,61	0,19	0,38	0,28	0,00						
23	0,97	0,71	0,79	0,85	0,55	0,62	0,51	1,03	0,69	1,23	0,67	0,80	0,66	0,49	0,57	0,57	0,80	0,58	0,61	0,44	0,66	0,59	0,00					
24	0,72	0,55	0,52	0,55	0,27	0,46	0,65	0,51	0,52	0,65	0,67	0,51	0,41	0,56	0,44	0,43	0,47	0,69	0,45	0,30	0,24	0,40	0,55	0,00				
25	0,44	0,47	0,32	0,53	0,54	0,44	0,56	0,53	0,41	0,75	0,49	0,48	0,35	0,48	0,29	0,42	0,40	0,55	0,46	0,37	0,33	0,44	0,61	0,36	0,00			
26	0,45	0,65	0,53	0,79	0,75	0,66	0,56	0,76	0,51	0,99	0,41	0,64	0,63	0,54	0,54	0,47	0,60	0,63	0,38	0,44	0,41	0,42	0,61	0,72	0,44	0,00		
27	0,72	0,78	0,48	0,81	0,55	0,61	0,66	0,54	0,53	0,69	0,65	0,58	0,72	0,49	0,56	0,37	0,40	0,83	0,53	0,49	0,43	0,38	0,71	0,49	0,53	0,59	0,00	
28	0,60	0,47	0,54	0,69	0,67	0,67	0,48	0,93	0,41	0,84	0,71	0,56	0,58	0,48	0,39	0,55	0,62	0,63	0,52	0,42	0,38	0,50	0,53	0,52	0,41	0,44	0,60	
29	0,44	0,33	0,37	0,69	0,37	0,39	0,64	0,46	0,30	0,66	0,30	0,48	0,26	0,42	0,34	0,37	0,54	0,55	0,41	0,26	0,24	0,33	0,53	0,25	0,20	0,51	0,53	
30	0,69	0,57	0,40	0,54	0,44	0,47	0,34	0,58	0,30	0,64	0,48	0,40	0,48	0,47	0,51	0,32	0,41	0,80	0,36	0,28	0,24	0,28	0,57	0,30	0,30	0,43	0,43	
31	0,43	0,61	0,52	0,74	0,60	0,85	0,81	0,70	0,58	0,84	0,56	0,81	0,72	0,63	0,62	0,63	0,77	0,66	0,87	0,70	0,46	0,65	0,64	0,65	0,43	0,50	0,61	
32	0,77	0,63	0,51	0,62	0,45	0,58	0,57	0,68	0,39	0,59	0,57	0,37	0,54	0,51	0,58	0,45	0,46	0,79	0,49	0,29	0,45	0,53	0,62	0,45	0,49	0,53	0,61	
33	0,64	0,44	0,38	0,58	0,56	0,72	0,87	0,81	0,61	0,79	0,45	0,82	0,40	0,52	0,56	0,57	0,57	0,64	0,61	0,65	0,29	0,67	0,71	0,48	0,40	0,72	0,47	
34	1,00	0,70	0,54	0,65	0,45	0,65	0,88	0,58	0,52	0,72	0,85	0,56	0,74	0,79	0,80	0,57	0,64	0,77	0,43	0,52	0,43	0,34	0,85	0,46	0,67	0,69	0,58	
35	0,96	0,91	0,79	0,90	0,79	0,75	1,18	0,71	0,77	0,87	1,07	0,39	1,07	0,98	1,21	0,85	0,83	0,79	0,66	0,98	1,08	0,75	0,90	0,75	0,89	1,10	0,71	
36	0,48	0,95	0,54	0,73	0,61	0,51	0,50	0,43	0,46	0,58	0,68	0,45	0,95	0,58	0,79	0,68	0,92	1,14	0,43	0,44	0,51	0,48	0,88	0,58	0,52	0,55	0,58	
37	1,05	1,03	0,97	0,96	0,95	0,59	0,94	0,75	0,95	0,81	0,99	0,53	0,87	1,06	0,98	0,77	0,83	1,20	0,79	0,73	0,84	0,90	0,99	0,66	0,95	0,83	0,75	
38	1,07	0,50	0,78	0,54	0,60	0,85	0,69	0,93	0,67	0,97	0,76	0,94	0,48	0,54	0,62	0,54	0,58	0,76	0,58	0,64	0,37	0,65	0,45	0,55	0,58	0,68	0,81	
39	0,64	0,65	0,73	0,67	0,62	0,71	1,00	0,65	0,47	0,33	0,69	0,46	0,46	0,67	0,75	0,67	0,60	0,62	0,69	0,44	0,63	0,50	0,80	0,44	0,54	0,92	0,74	
40	1,03	0,58	0,75	0,96	0,41	0,55	0,78	0,41	0,47	0,49	0,73	0,29	0,69	0,69	0,87	0,69	0,65	1,14	0,40	0,70	0,43	0,45	0,96	0,51	0,73	0,87	0,67	
41	0,76	0,82	0,74	0,61	0,59	0,76	0,79	0,53	0,56	0,61	0,75	0,50	0,68	0,89	1,15	0,81	0,72	0,81	0,56	0,45	0,61	0,47	0,75	0,45	0,72	0,92	0,66	
42	0,59	0,55	0,56	0,70	0,27	0,22	0,67	0,23	0,35	0,70	0,57	0,42	0,26	0,44	0,27	0,48	0,70	0,76	0,40	0,42	0,42	0,44	0,64	0,36	0,35	0,74	0,66	
43	0,43	0,66	0,39	0,53	0,63	0,61	0,72	0,68	0,65	0,65	0,65	0,59	0,73	0,58	0,81	0,53	0,56	0,70	0,61	0,41	0,49	0,48	0,68	0,43	0,55	0,68	0,68	
44	0,59	0,69	0,49	0,83	0,86	1,04	0,66	0,90	0,47	0,69	0,63	0,66	0,78	0,60	0,59	0,60	0,45	0,63	0,73	0,52	0,53	0,71	1,12	0,77	0,64	0,56	0,34	
45	1,00	0,88	0,77	0,71	0,67	0,62	0,80	0,52	0,65	0,83	0,73	0,57	0,71	0,71	0,94	0,61	0,73	0,78	0,65	0,49	0,41	0,49	0,66	0,46	0,51	0,59	0,59	
46	0,64	0,58	0,62	0,71	0,48	0,61	0,50	0,69	0,35	0,45	0,57	0,29	0,72	0,43	0,79	0,43	0,50	0,94	0,46	0,27	0,55	0,38	0,63	0,52	0,53	0,52	0,47	
47	0,86	0,94	0,68	0,94	0,39	0,67	0,57	0,52	0,44	0,80	0,65	0,77	0,63	0,54	0,70	0,47	0,57	0,85	0,51	0,41	0,30	0,35	0,62	0,52	0,58	0,58	0,52	
48	0,99	0,70	0,61	0,94	0,45	0,41	0,69	0,61	0,52	0,94	0,74	0,59	0,57	0,63	0,63	0,63	0,55	0,65	0,87	0,65	0,49	0,69	0,47	0,48	0,53	0,45	0,74	0,79
49	0,55	0,54	0,41	0,72	0,47	0,52	0,59	0,55	0,47	0,62	0,63	0,75	0,37	0,61	0,37	0,40	0,59	0,53	0,45	0,37	0,30	0,61	0,48	0,51	0,39	0,45	0,52	
50	0,60	0,60	0,44	0,65	0,44	0,70	0,78	0,63	0,48	0,71	0,67	0,88	0,48	0,58	0,35	0,39	0,58	0,59	0,69	0,58	0,38	0,67	0,57	0,45	0,42	0,78	0,49	
51	1,05	1,01	0,83	1,08	0,62	0,88	0,46	0,82	0,80	1,20	0,86	1,20	0,79	0,75	0,70	0,56	0,78	1,12	0,75	0,62	0,53	0,68	0,64	0,78	0,96	0,78	0,60	
52	0,75	1,10	0,98	1,15	0,91	1,01	1,84	0,51	0,69	0,79	1,15	0,88	0,98	1,24	1,35	0,95	0,91	0,75	1,28	1,07	1,15	0,95	1,15	0,83	0,95	0,88	1,28	
53	0,86	0,98	0,74	0,81	0,63	0,63	0,66	0,76	0,72	0,81	0,84	0,56	0,89	0,79	0,76	0,79	0,52	0,74	0,70	0,67	0,58	0,50	0,61	0,54	0,63	0,72	0,48	
54	0,49	0,65	0,44																									

Apêndice 12. Continuação...Matriz de distância genética entre 81 acessos de trevo branco baseada no coeficiente de Nei (1972) para os dados de microssatélites.

	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54				
1																															
2																															
3																															
4																															
5																															
6																															
7																															
8																															
9																															
10																															
11																															
12																															
13																															
14																															
15																															
16																															
17																															
18																															
19																															
20																															
21																															
22																															
23																															
24																															
25																															
26																															
27																															
28	0,00																														
29	0,46	0,00																													
30	0,36	0,30	0,00																												
31	0,67	0,50	0,57	0,00																											
32	0,39	0,49	0,45	0,85	0,00																										
33	0,69	0,34	0,53	0,44	0,63	0,00																									
34	0,85	0,59	0,57	0,85	0,54	0,72	0,00																								
35	1,02	0,89	1,01	0,94	0,75	0,77	0,63	0,00																							
36	0,71	0,61	0,48	0,78	0,65	0,84	0,69	0,67	0,00																						
37	0,95	0,95	0,90	1,03	0,71	1,16	1,11	0,77	0,73	0,00																					
38	0,58	0,50	0,51	0,75	0,51	0,65	0,73	1,35	1,30	0,88	0,00																				
39	0,80	0,40	0,56	0,65	0,67	0,54	0,64	0,58	0,54	0,70	0,69	0,00																			
40	0,73	0,64	0,57	0,86	0,55	0,72	0,63	0,40	0,45	0,69	0,86	0,65	0,00																		
41	0,84	0,52	0,56	0,75	0,85	0,69	0,43	0,42	0,46	0,96	0,91	0,32	0,49	0,00																	
42	0,59	0,30	0,43	0,74	0,49	0,61	0,73	0,89	0,57	0,94	0,77	0,58	0,47	0,77	0,00																
43	0,77	0,45	0,43	0,66	0,59	0,52	0,56	0,58	0,25	0,73	0,84	0,36	0,58	0,31	0,75	0,00															
44	0,55	0,64	0,54	0,61	0,72	0,58	0,92	0,91	0,78	1,25	1,19	0,77	0,83	0,82	0,92	0,77	0,00														
45	0,65	0,58	0,49	0,66	0,54	0,78	0,67	0,95	0,65	0,63	0,69	0,61	0,88	0,52	0,59	0,71	1,14	0,00													
46	0,46	0,46	0,38	0,81	0,28	0,74	0,47	0,71	0,43	0,77	0,81	0,58	0,49	0,53	0,61	0,34	0,67	0,69	0,00												
47	0,66	0,44	0,43	0,61	0,59	0,74	0,88	1,72	0,41	1,15	0,61	0,77	0,80	0,75	0,45	0,72	0,80	0,44	0,69	0,00											
48	0,67	0,38	0,57	0,95	0,57	0,97	1,00	1,04	0,71	0,88	0,53	0,85	0,70	0,89	0,46	0,81	1,29	0,81	0,72	0,45	0,00										
49	0,47	0,36	0,41	0,54	0,41	0,25	0,55	0,91	0,61	1,03	0,62	0,75	0,70	0,69	0,41	0,62	0,59	0,67	0,52	0,62	0,68	0,00									
50	0,62	0,42	0,48	0,32	0,70	0,45	0,74	1,14	0,95	0,90	0,63	0,67	0,80	0,92	0,50	0,75	0,51	0,73	0,80	0,62	0,81	0,32	0,00								
51	0,80	0,65	0,49	1,20	0,57	1,21	0,78	2,19	1,01	1,35	0,45	1,05	1,15	1,07	0,75	0,86	0,92	0,90	0,52	0,45	0,64	0,62	0,62	0,00							
52	1,32	0,95	1,24	0,57	0,85	1,20	0,91	0,57	0,57	1,79	1,04	0,75	0,63	0,63	0,98	0,69	0,97	0,88	1,01	0,75	0,95	0,77	0,79	0,75	0,00						
53	0,72	0,63	0,63	0,57	0,58	0,83	0,88	0,75	0,92	0,62	0,72	0,61	0,82	0,91	0,73	0,69	0,69	0,58	0,79	0,59	0,76	0,97	0,68	1,09	1,15	0,00					
54	0,71	0,33	0,38	0,45	0,63	0,43	0,61	0,99	0,26	0,90	0,94	0,66	0,55	0,52	0,47	0,29	0,62	0,62	0,43	0,41	0,77	0,34	0,54	0,78	0,84	0,75	0,00				
55	0,95	0,72	0,82	0,98	0,66	0,90	0,63	0,62	0,73	1,09	0,86	0,52	0,82	0,58	1,02	0,69	0,69	0,83	0,68	0,94	1,02	0,87	1,04	1,20	0,69	0,75	0,82				
56	0,86	0,73	0,98	0,62	0,64	1,06	0,52	0,69	0,75	1,10	0,65	0,52	0,69	0,67	0,71	0,73	1,14	0,67	0,71	0,84	0,77	0,97	1,00	0,80	0,49	0,65	0,76				
57	0,43	0,51	0,43	0,83	0,78	0,80	0,73	1,28	1,04	1,10	0,58	0,77	0,88	0,82	0,68	0,73	0,91	0,98	0,56	0,72	0,77	0,75	0,90	0,36	1,59	0,99	0,69				
58	0,60	0,75	0,99	1,20	0,90	1,42	1,24	2,25	0,97	1,10	0,73	0,99	1,10	1,35	0,80	1,15	2,20	0,96	1,10	0,55	0,88	0,84	1,32	0,56	1,50	0,95	0,95				
59	0,69	0,81	0,82	0,81	0,72	0,64	1,09	1,18	1,24	0,95	0,48	0,54	1,03	0,90	0,89	0,58	0,81	0,96	1,07	0,82	0,90	0,84	0,71	1,01	1,67	0,76	0,82				
60	0,38	0,33	0,36	0,59	0,47	0,41	0,65	1,10	0,62	0,83	0,50	0,69	0,56	0,79	0,40	0,50	0,65	0,59	0,52	0,36	0,56	0,46	0,61	0,71	1,24	0,61	0,34				
61	0,48	0,55	0,55	0,72	0,51	0,67	0,81	0,73	0,36	0,67	0,95	0,45	0,69	0,56	0,63	0,43	0,51	0,49	0,37	0,62	0,74	0,72	0,65	1,12	0,91	0,52	0,52				
62	0,81	0,59	0,90	0,56	0,82	0,69	0,77	0,77	0,67	0,96	0,88	0,58	0,84	0,72	0,69	0,45	0,69	0,75	0,90	0,81	0,75	0,74	0,45	1,15	0,63	0,50	0,74				
63	0,63	0,73	0,65	0,59	0,75	0,86	0,92	0,66	0,40	0,99	1,10	0,62	0,59	0,54	0,98	0,33	0,59	0,57	0,69	0,59	1,07	0,97	0,94	1,09	0,57	0,54	0,53				
64	0,70	0,70	0,73	0,73	0,72	0,85	0,52	0,80	0,50	1,17	0,73	0,69	0,84	0,50	1,10	0,69	0,84	0,76	0,60	0,79	0,77	0,70	1,03	0,85	0,57	0,92	0,73				
65	0,47	0,47	0,38	0,62	0,44	0,65	0,54	0,77	0,36	0,82	0,87	0,64	0,62	0,72	0,48	0,52	0,69	0,47	0,43	0,48	0,74	0,42	0,79	1,30	0,91	0,61	0,36				
66	0,47	0,47	0,18	0,77	0,40	0,77	0,61	0,99	0,58	0,99	0,49	0,69	0,45	0,57	0,53	0,53	0,55	0,55	0,43	0,33											

Apêndice 12. Continuação...Matriz de distância genética entre 81 acessos de trevo branco baseada no coeficiente de Nei (1972) para os dados de microssatélites.

	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81		
1																													
2																													
3																													
4																													
5																													
6																													
7																													
8																													
9																													
10																													
11																													
12																													
13																													
14																													
15																													
16																													
17																													
18																													
19																													
20																													
21																													
22																													
23																													
24																													
25																													
26																													
27																													
28																													
29																													
30																													
31																													
32																													
33																													
34																													
35																													
36																													
37																													
38																													
39																													
40																													
41																													
42																													
43																													
44																													
45																													
46																													
47																													
48																													
49																													
50																													
51																													
52																													
53																													
54																													
55	0,00																												
56	0,80	0,00																											
57	1,50	0,69	0,00																										
58	1,50	0,64	0,46	0,00																									
59	0,85	0,69	0,87	0,64	0,00																								
60	0,84	0,71	0,32	0,44	0,59	0,00																							
61	0,52	0,84	0,87	1,13	0,69	0,54	0,00																						
62	0,75	0,69	1,39	1,04	0,62	0,70	0,57	0,00																					
63	0,66	0,69	0,69	0,86	0,81	0,51	0,42	0,52	0,00																				
64	0,73	0,54	0,87	1,24	1,13	0,82	0,65	0,71	0,69	0,00																			
65	1,23	0,73	0,68	0,75	1,05	0,41	0,52	0,82	0,61	0,74	0,00																		
66	0,84	0,90	0,61	0,99	0,82	0,36	0,69	0,83	0,51	0,69	0,48	0,00																	
67	0,82	0,73	0,81	0,65	0,97	0,55	0,59	0,84	0,80	0,69	0,36	0,59	0,00																
68	0,92	0,88	0,80	0,75	0,96	0,60	0,67	1,06	0,73	0,61	0,34	0,46	0,38	0,00															
69	0,61	0,61	0,55	0,83	0,73	0,54	0,65	0,75	0,61	0,83	0,65	0,55	0,51	0,95	0,00														
70	0,66	0,68	0,53	0,53	0,96	0,38	0,71	0,68	0,55	0,54	0,68	0,43	0,84	0,68	0,61	0,00													
71	1,03	0,54	0,73	0,95	1,03	0,82	0,86	1,18	0,52	0,52	0,62	0,57	0,77	0,64	1,04	0,73	0,00												
72	0,48	0,86	0,67	0,77	0,61	0,44	0,37	0,61	0,55	1,01	0,69	0,56	0,63	0,87	0,45	0,47	0,77	0,00											
73	0,46	0,85	0,97	1,95	0,69	0,56	0,64	0,74	0,30	0,64	0,82	0,40	0,79	0,69	0,83	0,85	0,51	0,49	0,00										
74	0,70	0,93	1,13	1,39	1,03	1,00	0,49	0,60	0,74	0,82	0,82	1,01	0,63	0,43	0,73	0,96	0,85	0,69	0,56	0,00									
75	0,79	0,73	0,70	0,72	1,04	0,49	0,66	0,87	0,87	0,94	0,44	0,68	0,40	0,33	0,73	0,73	0,79	0,53	0,93	0,43	0,00								
76	0,74	0,66	1,12	1,79	0,87	0,92	0,59	0,61	0,44	0,50	0,69	0,72	0,58	0,62	0,83	0,77	0,31	0,63	0,25	0,43	0,69	0,00							
77	0,77	1,18	1,22	1,43	0,81	0,68	0,40	0,86	0,68	0,73	0,54	0,44	0,66	0,58	1,70	0,81	0,66	0,82	0,60	0,92	0,94	0,65	0,00						
78	0,83	0,51	0,78	0,67	0,96	0,71	0,75	0,95	0,85	0,46	0,61	0,71	0,24	0,53	0,62	0,73	0,77	0,97	1,15	0,86	0,60	0,87	0,85	0,00					
79	0,80	0,83	0,43	0,61	0,46	0,19	0,67	0,82	0,64	0,90	0,56	0,40	0,67	0,57	0,36	0,45	0,87	0,55	0,42	0,73	0,59	0,89	0,80	0,56	0,00				
80	1,12	0,87	0,77	1,45	1,21	0,82	1,10	1,07	0,84	0,75	1,03	0,84	1,56	0,77	0,65	0,87	0,94	1,22	0,81	0,39	0,59	0,71	0,99	0,76	0,47	0,00			
81																													

## Apêndice 13. Normas em que foi escrito o Capítulo II da Tese

### Ciência Rural

#### Instruções aos autores

#### Objetivo e política editorial

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias que deverão ser destinados com exclusividade.

#### Preparação de originais

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via [eletrônica](#) editados em idioma Português ou Inglês, todas as linhas deverão ser numeradas e paginados no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm, com no máximo, 28 linhas em espaço duplo, fonte Times New Roman, tamanho 12. O máximo de páginas será 15 para artigos científicos, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e ilustrações. Cada figura e ilustração deverá ser enviado em arquivos separados e constituirá uma página. Tabelas, gráficos e figuras não poderão estar com apresentação paisagem.

3. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências. Agradecimento(s) ou Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal, quando for necessário o uso deve aparecer antes das referências. Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de acordo com normas éticas. (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

4. A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) ou Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal, devem aparecer antes das referências. Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de acordo com normas éticas. (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

5. A nota deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) ou Agradecimento



### Apêndice 13. Continuação...Normas em que foi escrito o Capítulo II da Tese

(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal, caso existam devem aparecer antes das referências. Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de acordo com normas éticas. (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos estão disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista ([www.scielo.br/cr](http://www.scielo.br/cr)).

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave e resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

#### 9.1. Citação de livro:

JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders,1985.2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

#### 9.2. Capítulo de livro com autoria:

GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

#### 9.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: \_\_\_\_\_. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: \_\_\_\_\_. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

## Apêndice 13. Continuação...Normas em que foi escrito o Capítulo II da Tese

### 9.4. Artigo completo:

AUDE, M.I.S. et al. (Mais de 2 autores) Época de plantio e seus efeitos na produtividade e teor de sólidos solúveis no caldo de cana-de-açúcar. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.22, n.2, p.131-137, 1992.

### 9.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

### 9.6. Tese, dissertação:

COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

### 9.7. Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

### 9.8. Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

### 9.9. Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Capturado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

Apêndice 13. Continuação...Normas em que foi escrito o Capítulo II da Tese

UFRGS. Transgênicos. **Zero Hora Digital**, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Capturado em 23 mar. 2000. Online. Disponível na Internet: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>.

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. 23 mar. 2000. Online. Disponível na Internet <http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>.

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC

10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadros. As figuras devem ser enviadas à parte, cada uma sendo considerada uma página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 800 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

12. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderão ser utilizados.

13. Lista de verificação (Checklist [pdf](#) ou [doc](#))

14. A taxa de tramitação é de US\$ 15,00 e a de publicação de US\$ 20,00 por página impressa. Os pagamentos deverão ser feitos em reais (R\$), de acordo com a taxa de câmbio comercial do dia. Essas taxas deverão ser pagas no Banco do Brasil, Agência 1484-2, Conta Corrente 250945-8 em nome da FATEC - Projeto 96945. Os pagamentos poderão ser por cartão de crédito VISA ([.doc](#) ou [.pdf](#)) ou ainda por solicitação de fatura ([.doc](#) ou [.pdf](#)). A submissão do artigo obrigatoriamente deve estar acompanhada da taxa de tramitação, podendo ser enviada via fax (55 32208695), ou anexando o comprovante de depósito bancário escaneado ou ainda enviado por email ([cienciarural@mail.ufsm.br](mailto:cienciarural@mail.ufsm.br)) para que se possa fazer a verificação e prosseguir com a tramitação do artigo (Em ambos os casos o nome e endereço completo

### Apêndice 13. Continuação...Normas em que foi escrito o Capítulo II da Tese

são obrigatórios para a emissão da fatura). A taxa de tramitação é obrigatória para todos os trabalhos, independentemente do autor ser assinante da Revista. A taxa de publicação somente deverá ser paga (e o comprovante anexado) após a revisão final das provas do manuscrito pelos autores. Professores do Centro de Ciências Rurais e os Programas de Pós-graduação do Centro têm os seus artigos previamente pagos pelo CCR, estando isentos da taxa de publicação. Trabalhos submetidos por esses autores, no entanto, devem pagar a taxa de tramitação. No caso de impressão colorida, todos os trabalhos publicados deverão pagar um adicional de US\$ 120,00 por página colorida impressa, independentemente do número de figuras na respectiva página. Este pagamento também deverá ser realizado até a publicação do artigo rubricado obedecendo uma das formas previamente mencionadas.

15. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

16. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

17. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

Apêndice 14. Normas em que foi escrito o Capítulo III da Tese

#### Revista Brasileira de Zootecnia

Os trabalhos já publicados ou sob consideração em qualquer outra publicação não serão aceitos. Ressalta-se que esta norma não é válida para resumos expandidos.

Só serão aceitos trabalhos escritos em português ou inglês.

O texto deve ser elaborado segundo as normas da RBZ e orientações disponíveis no link "Instruções aos autores".

#### Formatação de texto

O texto deve ser digitado em fonte Times New Roman 12, espaço duplo (exceto Resumo, Abstract e Tabelas, que devem ser elaborados em espaço 1,5), margens superior, inferior, esquerda e direita de 2,5; 2,5; 3,5; e 2,5 cm, respectivamente.

Pode conter até 25 páginas, numeradas seqüencialmente em algarismos arábicos.

As páginas devem apresentar linhas numeradas (a numeração é feita da seguinte forma: MENU ARQUIVO/CONFIGURAR PÁGINA/LAYOUT/NÚMEROS DE LINHA.../ NUMERAR LINHAS), com paginação contínua e centralizada no rodapé.

#### Estrutura do artigo

O artigo deve ser dividido em seções com cabeçalho centralizado, em negrito, na seguinte ordem: Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimento e Literatura Citada.

Não serão aceitos cabeçalhos de terceira ordem.

Os parágrafos devem iniciar a 1,0 cm da margem esquerda.

#### Título

Deve ser preciso e informativo. Quinze palavras são o ideal e 25, o máximo. Digitá-lo em negrito e centralizado, segundo o exemplo: Valor nutritivo da cana-de-açúcar para bovinos em crescimento. Indicar sempre a entidade financiadora da pesquisa, como primeira chamada de rodapé numerada.

## Apêndice 14. Continuação...Normas em que foi escrito o Capítulo III da Tese

### Autores

Deve-se listar até seis autores. A primeira letra de cada nome/sobrenome deve ser maiúscula (Ex.: Anacleto José Benevenuto). Não listá-los apenas com as iniciais e o último sobrenome (Ex.: A.J. Benevenuto).

Outras pessoas que auxiliaram na condução do experimento e/ou preparação/avaliação do trabalho devem ser mencionadas em Agradecimento.

### Resumo

Deve conter no máximo 1.800 caracteres com espaço. As informações do resumo devem ser precisas e informativas. Resumos extensos serão devolvidos para adequação às normas.

Deve sumarizar objetivos, material e métodos, resultados e conclusões. Não deve conter introdução. Referências nunca devem ser citadas no resumo.

O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaço 1,5, começando por RESUMO, iniciado a 1,0 cm da margem esquerda.

### Abstract

Deve aparecer obrigatoriamente na segunda página e ser redigido em inglês científico, evitando-se sua tradução por meio de aplicativos comerciais.

O texto deve ser justificado e digitado em espaço 1,5, começando por ABSTRACT, em parágrafo único, iniciado a 1,0 cm da margem esquerda.

### Palavras-chave e Key Words

Apresentar até seis (6) palavras-chave e Key Words imediatamente após o RESUMO e ABSTRACT, respectivamente, em ordem alfabética. Devem ser elaboradas de modo que o trabalho seja rapidamente resgatado nas pesquisas bibliográficas. Não podem ser retiradas do título do artigo. Digitá-las em letras minúsculas, com alinhamento justificado e separado por vírgulas. Não devem conter ponto final.

### Introdução

Deve conter no máximo 2.500 caracteres com espaço.

Deve-se evitar a citação de várias referências para o mesmo assunto.

Trabalhos com introdução extensa serão devolvidos para adequação às normas.

Apêndice 14. Continuação...Normas em que foi escrito o Capítulo III da Tese

### Material e Métodos

Descrição clara e com referência específica original para todos os procedimentos biológicos, analíticos e estatísticos. Todas as modificações de procedimentos devem ser explicadas.

### Resultados e Discussão

Os resultados devem ser combinados com discussão. Dados suficientes, todos com algum índice de variação incluso, devem ser apresentados para permitir ao leitor a interpretação dos resultados do experimento. A discussão deve interpretar clara e concisamente os resultados e integrar resultados de literatura com os da pesquisa para proporcionar ao leitor uma base ampla na qual possa aceitar ou rejeitar as hipóteses testadas.

Evitar parágrafos soltos e citações pouco relacionadas ao assunto.

### Conclusões

Devem ser redigidas em parágrafo único e conter no máximo 1.000 caracteres com espaço.

Não devem ser repetição de resultados. Devem ser dirigidas aos leitores que não são necessariamente profissionais ligados à ciência animal. Devem explicar claramente, sem abreviações, acrônimos ou citações, o que os resultados da pesquisa concluem para a ciência animal.

### Abreviaturas, símbolos e unidades

Abreviaturas, símbolos e unidades devem ser listados conforme indicado na *home page* da RBZ, link Revista>Instruções aos autores.

Deve-se evitar o uso de abreviações não consagradas e de acrônimos, como por exemplo: "o T3 foi maior que o T4, que não diferiu do T5 e do T6". Este tipo de redação é muito cômoda para o autor, mas é de difícil compreensão para o leitor.

### Tabelas e Figuras

É imprescindível que todas as Tabelas sejam digitadas segundo menu do Word "Inserir Tabela", em células distintas (não serão aceitas tabelas com valores separados pelo recurso ENTER ou coladas como figura). Tabelas e figuras enviadas fora de normas serão devolvidas para adequação.

Devem ser numeradas seqüencialmente em algarismos arábicos e apresentadas logo após a chamada no texto.

#### Apêndice 14. Continuação...Normas em que foi escrito o Capítulo III da Tese

O título das tabelas e figuras deve ser curto e informativo, devendo-se adotar as abreviaturas divulgadas oficialmente pela RBZ.

A legenda das figuras (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura. Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas e unidades entre parênteses.

Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas, que deve ser referenciada.

As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.

Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).

As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico.

As figuras devem ser gravadas no programa Word, Excel ou Corel Draw (extensão CDR), para possibilitar a edição e possíveis correções.

Usar linhas com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura.

No caso de gráfico de barras, usar diferentes efeitos de preenchimento (linhas horizontais, verticais, diagonais, pontinhos etc). Evite os padrões de cinza porque eles dificultam a visualização quando impressos.

As figuras deverão ser exclusivamente monocromáticas.

Não usar negrito nas figuras.

Os números decimais apresentados no interior das tabelas e figuras devem conter vírgula, e não ponto.

#### Citações no texto

As citações de autores no texto são em letras minúsculas, seguidas do ano de publicação. Quando houver dois autores, usar & (e comercial) e, no caso de três ou mais autores, citar apenas o sobrenome do primeiro, seguido de et al.

#### Comunicação pessoal (ABNT-NBR 10520).

Não fazem parte da lista de referências, sendo colocadas apenas em nota de rodapé. Coloca-se o sobrenome do autor seguido da expressão "comunicação



Apêndice 14. Continuação...Normas em que foi escrito o Capítulo III da Tese

pessoal", a data da comunicação, o nome, estado e país da instituição à qual o autor é vinculado.

Literatura Citada

Baseia-se na Associação Brasileira de Normas Técnicas \_ ABNT (NBR 6023).

Devem ser redigidas em página separada e ordenadas alfabeticamente pelo(s) sobrenome(s) do(s) autor(es).

Digitá-las em espaço simples, alinhamento justificado e recuo até a terceira letra a partir da segunda linha da referência. Para formatá-las, siga as seguintes instruções: no menu Formatar, escolha a opção Parágrafo... RECUO especial, opção DESLOCAMENTO... 0,6 cm.

Em obras com dois e três autores, mencionam-se os autores separados por ponto-e-vírgula e, naquelas com mais de três autores, os três primeiros vêm seguidos de et al. As iniciais dos autores não podem conter espaços. O termo et al. não deve ser italizado nem precedido de vírgula.

O recurso tipográfico utilizado para destacar o elemento título será negrito e, para os nomes científicos, itálico.

Indica(m)-se o(s) autor(es) com entrada pelo último sobrenome seguido do(s) prenome(s) abreviado (s), exceto para nomes de origem espanhola, em que entram os dois últimos sobrenomes.

No caso de homônimos de cidades, acrescenta-se o nome do estado (ex.: Viçosa, MG; Viçosa, AL; Viçosa, RJ).

Obras de responsabilidade de uma entidade coletiva

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. 1025p.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **Sistema de análises estatísticas e genéticas - SAEG**. Versão 8.0. Viçosa, MG, 2000. 142p.

Livros e capítulos de livro

LINDHAL, I.L. Nutrición y alimentación de las cabras. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **Fisiología digestiva y nutrición de los ruminantes**. 3.ed. Zaragoza: Acríbia, 1974. p.425-434.

NEWMANN, A.L.; SNAPP, R.R. **Beef cattle**. 7.ed. New York: John Wiley, 1997. 883p.

Apêndice 14. Continuação...Normas em que foi escrito o Capítulo III da Tese

#### Teses e dissertações

Castro, F.B. **Avaliação do processo de digestão do bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado em bovinos**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1989. 123p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1989.

#### Boletins e relatórios

BOWMAN, V.A. **Palatability of animal, vegetable and blended fats by equine**. (S.L.): Virgínia Polytechnic Institute and State University, 1979. p.133-141 (Research division report, 175).

#### Artigos

Restle, j.; Vaz, r.z.; Alves Filho, d.c. et al. Desempenho de vacas Charolês e Nelore desterneiradas aos três ou sete meses. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.2, p.499-507, 2001.

#### Congressos, reuniões, seminários etc

Citar o mínimo de trabalhos publicados em forma de resumo, procurando sempre referenciar os artigos publicados na íntegra em periódicos indexados.

CASACCIA, J.L.; PIRES, C.C.; RESTLE, J. Confinamento de bovinos inteiros ou castrados de diferentes grupos genéticos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 30., 1993, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1993. p.468.

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Avaliação de cultivares de *Panicum maximum* em pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Zootecnia/Gmosis, [1999] (CD-ROM).

#### Artigo e/ou matéria em meios eletrônicos

NGUYEN, T.H.N.; NGUYEN, V.H.; NGUYEN, T.N. et al. [2003]. Effect of drenching with cooking oil on performance of local yellow cattle fed rice straw and cassava foliage. **Livestock Research for Rural Development**, v.15, n.7, 2003. Disponível em: <<http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd15/7/nhan157.htm>> Acesso em: 28/07/2005.

REBOLLAR, P.G.; BLAS, C. [2002]. **Digestión de la soja integral en rumiantes**. Disponível em: <[http://www.ussoymeal.org/ruminant\\_s.pdf](http://www.ussoymeal.org/ruminant_s.pdf)> Acesso em: 12/10/02.

Apêndice 14. Continuação...Normas em que foi escrito o Capítulo III da Tese

SILVA, R.N.; OLIVEIRA, R. [1996]. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPe, 4., 1996, Recife. **Anais eletrônicos...** Recife: Universidade Federal do Pernambuco, 1996. Disponível em: <<http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais.htm>> Acesso em: 21/01/97.

Apêndice 15. Normas em que foi escrito o Capítulo IV da Tese

## CBAB - CROP BREEDING AND APPLIED BIOTECHNOLOGY

Instruções aos Autores

### *Política geral e escopo da revista*

A CBAB - CROP BREEDING AND APPLIED BIOTECHNOLOGY (ISSN 1518-7853) - é a revista trimestral oficial da Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas (<http://www.sbmp.org.br>). O nome internacional abreviado é CROP BREED APPL BIOTECHNOL. A revista está indexada no AGRIS da FAO, CAB International Abstracts, Periódica, Scopus, Chemical Abstracts Service, Agrobase and Acervo Documental da Embrapa e destina-se à publicação de artigos científicos originais que possam contribuir para o desenvolvimento científico e tecnológico do melhoramento e da agricultura. Os artigos deverão contemplar as pesquisas básica e aplicada em melhoramento de plantas perenes e anuais, nas áreas de genética, conservação de germoplasma, biotecnologia, genômica, citogenética, estatística experimental, sementes, qualidade de alimentos, estresse biótico e abiótico, e áreas correlatas. O artigo deve ser inédito, sendo vetada a submissão do mesmo a outro periódico. As opiniões e conceitos emitidos são de exclusiva responsabilidade dos autores, não refletindo necessariamente as idéias da Editoria. A Editoria, porém se reserva o direito de sugerir ou solicitar as modificações que se fizerem necessárias. A reprodução completa ou parcial dos artigos é permitida, desde que citada a fonte.

### *Informação para aquisição*

Para associar-se à Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas ou adquirir exemplares avulsos da CBAB envie e-mail para [cbab@ufv.br](mailto:cbab@ufv.br)

### *Artigo*

A CBAB publica artigo exclusivamente em inglês, porém faculta ao autor a possibilidade de submetê-lo em português para, após o aceite, providenciar a sua tradução. O ônus da tradução é de responsabilidade do autor, porém a CBAB <http://www.sbmp.org.br/cbab/index.htm>, clicando Submission. O sistema de gerenciamento de artigos solicitará o e-mail do autor correspondente e a geração de uma senha. Os manuscritos deverão ser inseridos sem os nomes dos autores e seus endereços, os quais deverão ser disponibilizados em um formulário à parte. Com seu e-mail e sua senha pessoal, o autor poderá acompanhar toda a tramitação do seu artigo. A avaliação do artigo será feita por revisores ad hoc especialistas, para auxiliar a Editoria quanto à decisão final de aceite, modificações ou rejeição do mesmo. Ao autor responsável pelo artigo será fornecido, gratuitamente, um exemplar da revista. Separatas serão fornecidas a preço de custo pelo e-mail [cbab@ufv.br](mailto:cbab@ufv.br).

#### Apêndice 15. Continuação...Normas em que foi escrito o Capítulo IV da Tese

O artigo completo deverá conter, preferencialmente, a seguinte sequência: title, abstract, key words, introduction, material and methods, results and discussion, acknowledgements, título, resumo, palavras-chave, references, and tables and black-and-white figures. Ilustrações coloridas serão permitidas, porém com ônus para o autor correspondente. A digitação deverá ser feita em Word for Windows versão 6.0 em diante, em fonte times new roman, tamanho 12, espaçamento duplo, formato A4, com margens de 20 mm e paginação consecutiva no topo à direita. O artigo não deverá exceder a 18 páginas, incluindo tabelas e figuras digitadas em páginas separadas (uma por página) ao final do texto. O Título deverá ser claro, conciso e refletir a essência do artigo. Escrito com a inicial maiúscula e posto a esquerda, não deve conter mais de 15 palavras digitadas em times new roman 14, bold. O Abstract, tanto quanto o Resumo, não deve exceder a 150 palavras. Um máximo de cinco palavras-chave (key words) será permitido. A introdução deve incluir uma breve revisão de literatura sobre o tema e os objetivos da pesquisa. O Material e Método deve ser redigido de modo que outro pesquisador possa repetir a experiência. Preferencialmente, Resultados e Discussão devem ser apresentados em conjunto, para maior dinâmica de leitura. Os agradecimentos devem ser sucintos, limitados a colaboradores efetivos e agências financiadoras. O Resumo deve ser precedido do título do artigo em português. Cuidado com as Referências. Não citar resumos de eventos e nem artigos não publicados. Citar preferencialmente o artigo de tese, ao invés da própria tese. Esses cuidados darão maior credibilidade ao artigo e a revista. As citações feitas no texto pelo sobrenome do autor e ano (por exemplo, Liu 1998, Pereira and Amaral Júnior 2001, William et al. 1990) deverão ser ordenadas alfabeticamente no item Referências, seguindo os exemplos abaixo:

##### *Artigos em periódicos:*

Pereira MG and Amaral Júnior AT (2001) Estimation of genetic components in popcorn based on the nested design. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** 1: 3-10.

##### *Tese:*

Resende MDV (1999) **Predição de valores genéticos, componentes de variância, delineamentos de cruzamento e estrutura de populações no melhoramento florestal**. PhD Thesis, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 419p.

##### *Livro:*

Ramalho MAP, Ferreira DF and Oliveira AC (2000) **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. Editora UFLA, Lavras, 326p.

Apêndice 15. Continuação...Normas em que foi escrito o Capítulo IV da Tese

*Capítulo de livro:*

Sakiyama NS, Pereira AA and Zambolim L (1999) Melhoramento do café arábica. In: Borém A (ed.) **Melhoramento de espécies cultivadas**. Editora UFV, Viçosa, p. 189-204.

*Congresso:*

Frey KJ (1992) Plant breeding perspectives for the 1990s. In: Stalker HT and Murphy JP (eds.) **Proceedings of the Symposium on Plant Breeding in the 1990s**. CAB, Wallingford, p. 1-13.

A CBAB publica ainda outras modalidades de trabalhos, todos submetidos ao crivo de revisores ad hoc, do mesmo modo que os artigos.

*Revisões*

As Revisões, também limitadas a 18 páginas digitadas, serão solicitadas pela Editoria a(os) autor(es) consolidados nas pesquisas que envolvem o tema da revisão. Elas serão elaboradas com o objetivo de lançar luz a um tema instigante que mereça uma análise aprofundada sobre o seu estado-da-arte.

*Notas*

As Notas são limitadas a 12 páginas digitadas e destinadas a informar pesquisas ou observações novas, para as quais as ferramentas analíticas não se aplicam. Elas podem focar tema de amplo interesse; relato curto de uma pesquisa original; relato de pesquisa participativa; observações de especial interesse nas áreas de pesquisa, ensino, extensão; lançamento de um novo software relacionado com a área de melhoramento.

*Programas de melhoramento*

Programas de melhoramento inovadores ou que se destaquem pela eficiência, impacto e/ou continuidade poderão ser retratados na CBAB, limitados a 18 páginas digitadas.

*Lançamento de cultivares*

Os novos cultivares merecerão uma seção especial pela importância que representam para o melhoramento e, por conseguinte, para a agricultura nacional. A seção Lançamento de novos cultivares deverá conter abstract, limitado a 50 palavras, introdução, métodos de melhoramento utilizados, características de desempenho, produção de sementes básicas e um mínimo de referências, tabelas e figuras. Todo o texto ficará limitado a 12 páginas digitadas.

Apêndice 15. Continuação...Normas em que foi escrito o Capítulo IV da Tese

#### *Resenha de livro*

Esta nova seção foi criada para anunciar novos livros relacionados ao melhoramento de plantas. A contribuição para essa seção se dará mediante envio, pelo autor, de dois exemplares da obra. O livro será encaminhado para um revisor especializado, escolhido pela Editoria, para elaborar a resenha.

#### *Pontos de vista*

Pontos de vista, assim como as revisões, serão elaborados para a CBAB a convite da Editoria, para retratar temas de interesse dos melhoristas e da sociedade.

#### *Cartas*

Cartas breves, também de interesse geral, serão aceitas para publicação. A Editoria se reserva o direito de editar as cartas por limitações de espaço e clareza de exposição.

Autores de artigos na CBAB - CROP BREEDING AND APPLIED BIOTECHNOLOGY terão como benefícios:

- Submissão e revisão de artigos eletronicamente
- Rápida publicação: tempo médio de 4 meses
- Artigos disponibilizados em pdf na WEB

Envie artigos acessando <http://www.sbmp.org.br/cbab/index.htm> clicando em Submission

## 5.4 Vita

Fernanda Bortolini, filha de Rogério Bortolini e Nilva Maria Grazziotin Bortolini, nasceu em 26 de setembro de 1979 na cidade de Passo Fundo - RS, onde realizou o ensino fundamental, médio e superior. Formou-se em Ciências Biológicas no dia 14 de dezembro de 2001 pela Universidade de Passo Fundo.

No ano de 1999 realizou estágio extracurricular na área de Botânica de Plantas Forrageiras na UPF e no subprojeto “Avaliação de genótipos de cereais de inverno quanto à resistência à giberela (*Gibberella zeae*)” na Embrapa Trigo. Em 2000, atuou como bolsista de iniciação científica do PIBIC/UPF no projeto “Determinação da Qualidade de Forragem por Espectrometria de Reflectância do Infravermelho Proximal – NIRS” e, neste mesmo ano, realizou estágio extracurricular no Mini-Zoológico da UPF.

No ano de 2001, realizou estágio curricular na Embrapa Trigo, no subprojeto “Haplodiploidização em cereais de inverno através da cultura *in vitro* de embriões imaturos e anteras”, e também, estágios de docência no ensino médio e fundamental.

Em 2002, ingressou como aluna do Curso de Mestrado em Zootecnia da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Em 2004, ingressou no curso de Doutorado em Zootecnia da mesma instituição, realizando estágio de doutorado em 2006/2007 como bolsista Capes, no *Institut National de la Recherche Agronomique* (INRA – Site de Crouël) de Clermont-Ferrand, França, na Unidade de Melhoramento e Sanidade de Plantas.