

## OBTENÇÃO DE AMOSTRA NUCLEAR DE *Stylosanthes guianensis*

Cláudio Takao Karia<sup>1</sup>; Ronaldo Pereira de Andrade<sup>2</sup>; Maria José D'Ávila Charchar<sup>3</sup>; Antônio Carlos Gomes<sup>4</sup>

### Resumo

O trabalho teve como objetivo a obtenção de uma amostra nuclear de *Stylosanthes guianensis*, utilizando a caracterização morfoagronômica, dados de passaporte e a possibilidade de intercâmbio imediato dos acessos, considerando a quantidade de sementes existente no Banco de Germoplasma. Para a caracterização morfoagronômica, três coleções da espécie foram avaliadas, em Planaltina - DF, nos anos de 1994, 1996 e 1998, contendo, respectivamente, 62, 84 e 170 acessos, totalizando 316 introduções. A amostra nuclear, representando a variabilidade fenotípica da coleção e contendo acessos originários de todos os ecossistemas em que a espécie ocorre, foi estabelecida com 35 acessos. Espera-se que tais acessos sejam testados em diversos sistemas de produção, para a identificação dos tipos morfológicos mais adequados para cada situação, criando novas demandas e promovendo o maior aproveitamento dos recursos genéticos da espécie armazenados nos Bancos de Germoplasma.

### Introdução

Dentre as principais causas do uso incipiente dos recursos genéticos vegetais, armazenados *ex situ*, estão a dificuldade de se obter informações sobre os acessos armazenados, incluindo dados de passaporte, caracterização e avaliação, bem como a baixa disponibilidade de sementes ou propágulos, em quantidade e qualidade (VAN SLOTEN, 1987) e (HUMPHREYS, 2003). No caso de espécies forrageiras, a produção de biomassa e sua qualidade são características importantes para a seleção dos genótipos, embora, a rigor, busca-se uma forrageira que propicie bom desempenho animal, como a produção de carne, leite, lã e prole. Por outro lado, as espécies com potencial forrageiro, especialmente *S. guianensis*, também podem ser utilizadas em outros sistemas de produção, como adubo verde, planta de cobertura do solo, produção de palhada em sistema de plantio direto (ANDRADE; KARIA; RAMOS, 2004). Considerando ainda que não foram definidos os ideótipos de planta para esses sistemas agrícolas, propõe-se a utilização do conceito de coleção nuclear com o objetivo de estabelecer uma amostra de acessos, contendo de 10% a 15% dos acessos, que representem a variabilidade existente no Banco de Germoplasma da Embrapa Cerrados (amostra nuclear ou *core sample*). A avaliação agrônômica dos acessos dessa amostra, em tais sistemas agrícolas, permitirá a identificação de acessos ou “tipos morfológicos” mais adequados para usos específicos, em cada sistema de produção. Posteriormente, será possível a identificação e disponibilização dos grupos de acessos, com características semelhantes, existentes na coleção original, promovendo, assim, maior aproveitamento dos recursos genéticos.

### Material e Métodos

Foram avaliados 316 acessos de *S. guianensis*, em três coleções, estabelecidas nos anos de 1994 (62 acessos), 1996 (84 acessos) e 1998 (170 acessos), na Embrapa Cerrados, em Planaltina - DF. Na coleção 1996, vinte acessos da coleção de 1994 foram reavaliados e, da mesma forma, dezoito acessos da coleção de 1996 foram reavaliados em 1998. Além disso, mais oito acessos foram comuns nas avaliações das três coleções. Para o estabelecimento das coleções, as sementes, escarificadas mecanicamente, foram colocadas em caixas do tipo Gerbox, forradas com papel de filtro. Quando o comprimento das plântulas atingiu aproximadamente 2,0 cm, foram transplantadas em bandejas para mudas, com 72 células (6 x 12) e mantidas em casa de vegetação. Após 90 dias, foram plantadas no campo, em um latossolo vermelho escuro, sem repetições, com cinco ou sete plantas por parcela, com

<sup>1</sup> Pesquisador, Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Planaltina, DF, CEP. 73310-970. E-mail: [karia@cpac.embrapa.br](mailto:karia@cpac.embrapa.br)

<sup>2</sup> Pesquisador, Embrapa Transferência de Tecnologia, Parque Estação Biológica, s/n°, Brasília, DF, CEP 70770-901. E-mail: [ronaldo.andrade@embrapa.br](mailto:ronaldo.andrade@embrapa.br)

<sup>3</sup> Pesquisadora aposentada da Embrapa Cerrados. E-mail: [mjodavila@gmail.com](mailto:mjodavila@gmail.com)

<sup>4</sup> Pesquisador aposentado da Embrapa Cerrados. E-mail: [gomes@hotmail.com](mailto:gomes@hotmail.com)

espaçamento de 0,5 m entre plantas e 1,5 m entre parcelas. Na coleção de 1994 foram avaliados, ao nível de plantas individuais, a altura da planta, o diâmetro da planta, o comprimento da haste principal, o número de ramos primários inseridos até uma altura de dez centímetros do solo, o comprimento do primeiro ramo primário, sendo os dois primeiros realizados aos seis meses e os três últimos aos sete meses após o plantio no campo; o comprimento e a largura do folíolo central, o comprimento e a largura do folíolo lateral direito, utilizando-se a terceira folha da segunda ramificação; o número de dias para o início do florescimento e o florescimento pleno, em relação ao dia primeiro de janeiro e a susceptibilidade à antracnose, utilizando-se uma escala de notas de zero a nove (CHAKRABORTY; RATCLIFF; MACKAY, 1990). Na coleção de 1996, foram avaliados, além dos caracteres acima, a altura das plantas antes do plantio das mudas no campo; o número de dias para o aparecimento dos frutos e para a maturação dos frutos e a susceptibilidade à antracnose no segundo ano após o plantio. Na coleção de 1998, foram avaliados os mesmos caracteres da coleção de 1996, exceto a susceptibilidade à antracnose no segundo ano. Os dados das médias das parcelas foram analisados utilizando-se a análise de componentes principais e a análise de agrupamento pelo método do vizinho mais próximo. O número de grupos foi estabelecido pela análise dos valores da porcentagem da soma de quadrados entre grupos, em relação à soma de quadrados total ou coeficiente  $R^2$ , buscando-se pontos de saltos relativamente grandes desse valor, para cada passo do algoritmo de agrupamento, os quais indicam possíveis momentos de parada (MINGOTI, 2007). As análises foram feitas, separadamente, para cada coleção e, também, foi realizada a análise conjunta, considerando apenas as variáveis comuns para as três coleções. Para cada análise de agrupamento foi ainda utilizada a análise discriminante para a confirmação da alocação dos acessos dentro dos grupos formados. Foram utilizados os pacotes estatísticos LISA - Logiciel Intégré des Systèmes Agraires e SAS versão 8.2.

## **Resultados e Discussão**

Na análise conjunta de agrupamento, pelo método do vizinho mais próximo, observou-se que os genótipos comuns, avaliados em coleções distintas, foram alocados em grupos morfoagronômicos diferentes, indicando, como esperado, um forte efeito entre anos de avaliação. Isso se deve à escolha dos caracteres utilizados, que são altamente influenciados pela variação ambiental. Dessa forma, a análise conjunta, considerando simultaneamente as três coleções, não foi levada em consideração para estabelecimento da amostra nuclear. Na análise de componentes principais da coleção de 1994, os cinco primeiros componentes acumularam 73% da variação total e, foram formados nove grupos de similaridade, cuja soma de quadrados entre grupos somou 73%. Na coleção de 1996, os três primeiros componentes principais acumularam 71% da variação total e foram estabelecidos nove grupos de similaridade, que acumularam um valor de  $R^2$  de 72%. Na coleção de 1998, os três primeiros componentes principais acumularam 74% da variação total e sete grupos foram considerados ( $R^2 = 72\%$ ). Após a formação dos grupos de similaridade, que reduziu substancialmente a dimensão do universo de possibilidades de escolhas, foi definido como 35 o número de acessos da amostra nuclear. Também, após a avaliação da distribuição dos acessos nos grupos e a observação dos dados de passaporte, foram definidos os seguintes critérios para a escolha dos acessos, dentro dos grupos: a) local de coleta - os acessos foram escolhidos de forma que todos os ecossistemas fossem representados; b) disponibilidade dos dados de passaporte; c) disponibilidade de sementes – suficientes para imediato intercâmbio e instalação de campos de multiplicação; d) resistência à antracnose – principal doença do gênero, que poderia prejudicar as avaliações futuras. A coleção de 1998, por possuir o maior número de acessos, foi nomeada para se iniciar a escolha dos acessos, seguindo os critérios acima, nos sete grupos formados. Posteriormente, observaram-se os acessos comuns na coleção 1998 e 1996 e os grupos em que esses acessos foram alocados na análise de agrupamento da coleção de 1996. Os grupos em que esses acessos foram alocados foram considerados como já amostrados e, procedeu-se então, a escolha dos acessos pertencentes aos demais grupos. O mesmo critério foi adotado em relação à coleção de 1994, ou seja, observaram-se os acessos comuns às duas coleções e, posteriormente, foi feita a escolha dos acessos dos demais grupos. Nesse caso, também se consideram os acessos comuns às três coleções. Observa-se que os sítios de coleta dos acessos estão localizados desde 9° de latitude norte (CPAC 1118, Pariaguán – Venezuela) até 21,5° de latitude sul (CPAC 4233, Ribeirão Preto - SP) e desde 33° latitude oeste (CPAC 2736, Alagoinhas – BA) até 77° de longitude oeste (CPAC 444, Jamundi – Colômbia), com os extremos de altitude

variando de 20 m (CPAC 4314, Santo Antônio de Tauá - PA) até 1500 m (CPAC 648, Bogotá – Colômbia) (Tabela 1). Na amostra nuclear também foram observadas variações em outras características não contempladas na análise estatística multivariada, como por exemplo, a cor das flores, apresentando acessos com flor laranja, amarela, creme e branca. Nota-se, ainda, que as quatro variedades botânicas (*canescens*, *guianensis*, *microcephala* e *pauciflora*) foram incluídas (Tabela 1) e que, portanto, são observadas variações com relação às características morfológicas que diferenciam essas variedades, como presença de pelos e cerdas nos caules, brácteas e estípulas, tamanho das inflorescências, comprimento das brácteas, número de espigas por inflorescência, formato das espigas, tamanho e coloração das sementes.

## **Conclusões**

A coleção de *S. guianensis* da Embrapa Cerrados possui grande variabilidade fenotípica e, também, possui representantes dos ecossistemas em que a espécie ocorre. A amostra nuclear estabelecida representa a variabilidade existente na coleção e poderá ser utilizada em avaliações que tenham como objetivo a inserção da espécie nos sistemas de produção. Essa amostra nuclear também poderá ser utilizada em estudos básicos, em que a representatividade da variabilidade da espécie seja desejável, como por exemplo, na análise da diversidade genética, nos estudos de filogenia, na seleção de marcadores moleculares e de descritores morfológicos.

## **Referências**

ANDRADE, R. P. de; KARIA, C. T.; RAMOS, A. K. B. *Stylosanthes* as a forage legume at its centre of diversity. In: CHAKRABORTY, S. (Ed.). *High-yielding anthracnose-resistant Stylosanthes for agricultural systems*. Adelaide: Australian Centre for International Agricultural Research, 2004. p.39-50.

CHAKRABORTY, S.; RATCLIFF, D.; MACKAY, F. J. Anthracnose of *Stylosanthes scabra*: effect of leaf surface wetness on disease severity. *Plant disease*, St. Paul, v. 74, n. 5, p. 379-384, 1990.

HUMPHREYS, M. O. Utilization of plant genetic resources in breeding for sustainability. *Plant Genetic Resources*, Cambridge, v. 1, n. 1, p. 11-18, 2003.

MINGOTI, S. A. *Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada*. Belo Horizonte: UFMG, 2007. 295 p.

VAN SLOTEN, D. H. The role of curators, breeders and others users of germplasm in characterization and evaluation of crop genetic resources. *IBPGR/SEAN*, Roma, Special Issue, p. 3-8, 1987.

**Tabela 1.** Acessos pertencentes a uma amostra nuclear, estabelecida a partir de 316 acessos de *S. guianensis*, do Banco de Germoplasma de forrageiras da Embrapa Cerrados, em Planaltina (DF).

Coleção	Variedade	CPAC	BRA	Coletor	CIAT	País	UF	Cidade	Atitude
98	<i>pauciflora</i>	135	3671		1297	BRA	DF	Planaltina	1100
98	<i>guianensis</i>	444	2291		184	COL	Valle del Cauca	Jamundi	960
98	<i>guianensis</i>	648			1950	COL	Cundinamarca	Bogotá	1500
98	<i>pauciflora</i>	664			1059	BRA	BA	Candeias	60
96	<i>pauciflora</i>	1109			1021	BRA	MG	Centralina	900
98	<i>pauciflora</i>	1113			1280	BRA	MA	Balsas	240
98	<i>pauciflora</i>	1118			1493	VEN	Anzoátegui	Pariaguán	250
96	<i>pauciflora</i>	1134			1896	VEN	Anzoátegui	El Tigre	130
96	<i>pauciflora</i>	1148	8516		2146	BRA	BA	Feira de Santana	100
98	<i>guianensis</i>	1230	17817	NC 972	2950	BRA	MG	Belo Horizonte	720
96	<i>canescens</i>	1237	16683		2615	BRA	TO	Paraíso	300
98	<i>pauciflora</i>	1352	22861	LC 4420	2982	BRA	BA	Andaraí	400
98	<i>microcephala</i>	1371	22250	LC 4284	10107	BRA	GO	Alvorada do Norte	800
98	<i>pauciflora</i>	2203	23281		2987	BRA	BA	Itaçu	870
96	<i>guianensis</i>	2464	32826	LC 7192	10993	BRA	TO	Colinas	400
98	<i>pauciflora</i>	2736	14001	LC 3374	2511	BRA	BA	Alagoinhas	150
96	<i>pauciflora</i>	2757	1341		1320	BRA	MA	Balsas	340
98	<i>pauciflora</i>	2768	35131		10267	BRA	MG	Uberaba	500
96	<i>pauciflora</i>	2769	16667		2613	BRA	TO	Fátima	365
98	<i>canescens</i>	4144	36561	LC 8037		BRA	TO	Paraíso	230
98	<i>canescens</i>	4171	36358	LC 8066		BRA	GO	Jaraguá	570
96	<i>pauciflora</i>	4194	36404	LC 7546		BRA	DF	Planaltina	1120
94	<i>pauciflora</i>	4199	36447	LC 7647		BRA	BA	Ibotirama	480
98	<i>canescens</i>	4227	37753	LC 8139		BRA	SP	Ituverava	730
98	<i>canescens</i>	4233	37818	LC 8152		BRA	SP	Ribeirão Preto	500
98	<i>canescens</i>	4234	37648	LC 8113		BRA	GO	Campo Alegre	860
98	<i>guianensis</i>	4267	36958	LC 8191		BRA	MG	Poços de Caldas	1230
94	<i>microcephala</i>	4285	36382	LC 7580		BRA	GO	Alvorada do Norte	700
94	<i>guianensis</i>	4306	38598	LC 8383		BRA	MG	Piraúba	390
96	<i>guianensis</i>	4311	38750	LC 8425		BRA	MG	Belo Horizonte	1200
96	<i>guianensis</i>	4314	39306	NC 2280		BRA	PA	St. Antônio Tauá	20
96	<i>guianensis</i>	4323	39608	NC 2337		BRA	PA	Timboteua	70
94	<i>guianensis</i>	4332	40118	NC 2449		BRA	PA	Capitão Poço	25
94	<i>microcephala</i>	4310	38717	LC 8416		BRA	MG	Belo Horizonte	860
94	<i>guianensis</i>	4316	39331	LC 4316		BRA	PA	St. Antônio Tauá	60