

## DIVERSIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE *Stylosanthes capitata*<sup>1</sup>

JANAINA AZEVEDO MARTUSCELLO<sup>2\*</sup>, THIAGO GOMES DOS SANTOS BRAZ<sup>3</sup>, JÉSSICA MARIANE SILVEIRA<sup>2</sup>, ROSANGELA MARIA SIMEÃO<sup>4</sup>, LIANA JANK<sup>4</sup>, MARIANE RODRIGUES FERREIRA<sup>2</sup>, DANIEL DE NORONHA FIGUEIREDO VIEIRA DA CUNHA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Recebido para publicação em 12/05/15. Aceito para publicação em 28/10/15.

<sup>2</sup>Universidade Federal de São João del-Rei, São João del-Rei, MG, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, MG, Brasil.

<sup>4</sup>Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, Brasil.

Autor correspondente: janaina@ufsj.edu.br

RESUMO: Objetivou-se com este trabalho avaliar a diversidade genética e a importância relativa de caracteres morfológicos para o estudo da diversidade genética em genótipos de *Stylosanthes capitata* com base em caracteres morfológicos. Foram avaliadas 10 famílias de polinização aberta (297-2, 49-5, 1064-4, 49-4, 1095-5, 141-6, 1064-6, 297-6, 625-3, 111-3), previamente selecionadas pelo programa de melhoramento da Embrapa Gado de Corte e a cultivar Campo Grande como testemunha. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Foram avaliadas as características morfológicas: forma de crescimento, comprimento, largura, relação comprimento:largura dos folíolos centrais e laterais, altura da planta, comprimento da haste e número de ramificações secundárias. A matriz de distância generalizada do Mahalanobis foi obtida utilizando-se as médias fenotípicas para cada característica e a matriz de variâncias e covariâncias residuais. Em posse da matriz de dissimilaridade, as famílias e a cultivar Campo Grande foram agrupadas utilizando o método de Ward. A análise de variáveis canônicas (VC) também foi realizada utilizando-se a média fenotípica dos caracteres avaliados e a matriz de variâncias e covariâncias residuais. Por meio da análise de agrupamento pelo método de Ward foi possível reunir os 11 genótipos em cinco grupos. A análise de variáveis canônicas foi realizada com grande eficiência, pois permitiu resumir a variação total observada nos nove caracteres morfológicos em apenas três VC, que acumularam 81,65% da variação total dos dados. Também foi possível realizar o estudo da importância das características para o agrupamento. Os caracteres morfológicos largura do folíolo central, relação comprimento largura dos folíolos central e lateral, largura do folíolo lateral e ramificações secundárias figuram entre os de maior importância para a avaliação da diversidade genética entre genótipos de *Stylosanthes capitata*.

Palavras chave: morfologia, dissimilaridade, distância de Mahalanobis, forrageira, leguminosa, variáveis canônicas.

### GENETIC DIVERSITY IN *Stylosanthes capitata* ACCESS

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the genetic diversity and the relative importance of morphological traits for the study of genetic diversity among *Stylosanthes capitata* genotypes. Ten open-pollinated families (297-2, 49-5, 1064-4, 49-4, 1095-5, 141-6, 1064-6, 297-6, 625-3, and 111-3), previously selected by the Embrapa Gado de Corte improvement program, and the Campo Grande cultivar as control were evaluated. A completely randomized design consisting of four repetitions was used. The following morphological traits were studied: type of growth, length, width and length-to-width ratio of the central and lateral leaflets, plant height, stem length, and number of secondary ramifications. Mahalanobis generalized distance was calculated using the phenotypic means for each trait and the matrix of residual variances and covariances. Once the dissimilarity matrix was obtained, the families and Campo Grande cultivar were grouped

using Ward's method. Canonical variables were also analyzed using the phenotypic mean of the traits studied and the matrix of residual variances and covariances. Cluster analysis by Ward's method permitted to divide the 11 genotypes into five groups. Canonical analysis was efficient since it permitted to summarize the total variation observed in the nine morphological traits into only three canonical variables, which accounted for 81.65% of the total variation in the data. The importance of the traits for clustering was also analyzed. Central leaflet width, length-to-width ratio of the central and lateral leaflets, lateral leaflet width and secondary ramifications were the most important traits for the evaluation of genetic diversity among *Stylosanthes capitata* genotypes.

Keywords: morphology, dissimilarity, Mahalanobis distance, forage, legume, canonical variable.

## INTRODUÇÃO

A flora brasileira é extremamente rica em leguminosas e é, inclusive, centro de origem de diversas espécies que poderiam ser usadas no estabelecimento de pastagens. Dentre estas leguminosas nativas destaca-se o gênero *Stylosanthes* (KARIA e ANDRADE, 1996) que possui diversas espécies, amplamente distribuídas pelo continente americano, apresentando grande variação de formas e tipos, resultantes da evolução de ecótipos submetidos às diferentes condições de clima, solos e pressões bióticas (KARIA *et al.*, 2011). Forrageiras do gênero *Stylosanthes* tem se destacado por sua adaptação a solos ácidos e de baixa fertilidade, alta capacidade de fixação biológica do nitrogênio (FBN), tolerância a seca e elevada produtividade (RESENDE *et al.*, 2007). A maioria das espécies é colonizadora e tem como habitat regiões de baixa precipitação, com solos de baixa fertilidade natural, pobres em cálcio e fósforo e com elevado teor de alumínio (KARIA *et al.*, 2011). Essas espécies também possuem grande potencial de utilização em outros sistemas agrícolas, como adubo verde, planta de cobertura das entrelinhas em culturas perenes, planta para proteção do solo e na recuperação de áreas degradadas (CAMERON e CHAKRABORTY, 2004).

O cultivo de leguminosas forrageiras proporciona grandes benefícios ao sistema de produção, pois contribui com a diversificação das pastagens e com a redução dos gastos com adubo nitrogenado (CASAGRANDE *et al.*, 2013). Nesse sentido, as plantas do gênero *Stylosanthes* são uma alternativa viável para diversificação, não somente pela capacidade de fixação do nitrogênio, mas pelo valor nutritivo, que aumenta sobremaneira a qualidade da dieta (KARIA *et al.*, 2002).

O estudo da diversidade genética tem como um de seus objetivos a seleção de progenitores divergentes que proporcionem maior vigor e amplificação da diversidade genética por meio de cruzamentos entre

materiais genéticos divergentes. Nesse sentido, parte-se da premissa de que a recombinação de indivíduos divergentes, de bom desempenho, pode resultar em maior complementaridade genética nas gerações segregantes e ampliar a possibilidade de recuperação de indivíduos transgressivos (CRUZ *et al.*, 2011).

A diversidade genética pode ser estudada por meio de caracteres agronômicos, morfológicos e moleculares. A utilização de caracteres morfológicos é importante, pois permite a identificação de indivíduos contrastantes, além de ser útil no manejo dos recursos genéticos auxiliando na caracterização de plantas no banco de germoplasma. Apesar das vantagens do uso de características morfológicas na avaliação da diversidade genética de plantas, esta análise depende de características que melhorem a eficiência na discriminação dos genótipos.

Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar a diversidade genética e a importância relativa de caracteres morfológicos de genótipos de *Stylosanthes capitata* com base em caracteres morfológicos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação na Universidade Federal de São João del Rei, MG. O município está situado na latitude de 21°08'11"S e longitude 44°15'43"W e altitude de 904 m. O clima, pelo sistema de KOEPPEN (1948), é do tipo cwa, com estações seca (maio a outubro) e chuvosa (novembro a abril) bem definidas.

Os vasos com capacidade de 5,8 dm<sup>3</sup> e orifícios para dreno do excesso de água receberam amostras de solo (da camada de 0 a 20 cm de profundidade) adubadas com 300 mg/dm<sup>3</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, tendo como fonte o superfosfato simples, de acordo com análise de fertilidade (pH em água=5,73; P=4,4 mg/dm<sup>3</sup>; K=40 mg/dm<sup>3</sup>; Ca<sup>2+</sup>=2,5 cmol/dm<sup>3</sup>; Mg<sup>2+</sup>= 1,54 cmol/dm<sup>3</sup>; H + Al= 5,3 cmol/dm<sup>3</sup>).

Foram avaliadas 10 famílias de *Stylosanthes capitata* (297-2, 49-5, 1064-4, 49-4, 1095-5, 141-6, 1064-6, 297-6, 625-3, 111-3) de polinização aberta previamente selecionadas pelo programa de melhoramento da Embrapa Gado de Corte e a cultivar Estilosantes Campo Grande. Considerando-se que a cultivar Campo Grande é composta pela mistura física de duas espécies (*S. capitata* e *S. macrocephala*) os tratos culturais foram realizados de modo a permanecerem somente plantas de *S. capitata*.

Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. A sementeira foi feita diretamente no vaso, com 15 sementes/vaso. Cerca de 40 dias após a germinação, realizou-se o desbaste, deixando somente 5 plantas/vaso.

Para caracterização morfológica, foram utilizados os seguintes descritores: forma de crescimento, comprimento, largura e relação comprimento: largura dos folíolos centrais e laterais, altura da planta, comprimento da haste e número de ramificações secundárias. Os descritores morfológicos foram avaliados 45 dias após a germinação e medidos com auxílio de régua milimetrada.

A matriz da distância generalizada de Mahalanobis foi obtida com base nas médias genotípicas e na matriz de variâncias e covariâncias residuais. De posse da matriz de dissimilaridade, foi realizado o agrupamento dos genótipos e geração de dendrograma por meio do método de Ward. Após o processo de agrupamento foi obtido o valor médio de cada variável morfológica para observar a extensão da diferenciação morfológica entre os grupos.

Análise de variáveis canônicas (VC) também foi realizada com base na média fenotípica dos caracteres avaliados e na matriz de variâncias e covariâncias residuais. Em posse dos escores relativos às variáveis canônicas foi possível estudar

a importância relativa dos caracteres para o estudo da diversidade e discriminação dos genótipos identificando aqueles de maior peso nos autovetores com menor variância acumulada.

Todas as análises foram realizadas por meio do Programa GENES, nas seções Diversidade Genética e Análise Multivariada e Simulação (CRUZ e CARNEIRO, 2006).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio da análise de agrupamento pelo método de Ward foi possível reunir os 11 genótipos em cinco grupos (Figura 1). O primeiro grupo foi formado pelos genótipos 111-3, 297-2 e 297-6, o segundo foi formado por 141-6 e 49-5, o terceiro por 1064-6, 625-3, Estilosantes Campo Grande (CG) e 1095-5. Os genótipos 1064-4 e 49-4 apresentaram grande divergência em relação aos demais, ficando portanto isolados nos grupo 4 e 5, respectivamente. As famílias 1064-4 e 1064-6 e 49-4 e 49-5 foram selecionadas dentro de dois acessos, mesmo assim são suficientemente divergentes para formarem agrupamentos diferentes. Tal resultado não foi evidenciado para os genótipos 297-2 e 297-6, que se originaram da seleção em um mesmo acesso.

Os grupos 1 e 3 foram caracterizados por plantas de folíolos laterais e principais mais largos, tanto na folha principal quanto na folha lateral (Tabela 1). Esta característica é importante em consórcios, pois aumenta a área foliar para captação de luz e a competitividade com outras plantas. Apesar das semelhanças, os grupos 1 e 3 podem ser diferenciados pelo comprimento de haste que é maior no 1, assim como a altura de planta (Tabela 1). Isto indica que as plantas do grupo 1 têm maior porte, o que torna-se vantajoso em uma planta que possivelmente será utilizada para consorciação.

As ramificações laterais também são

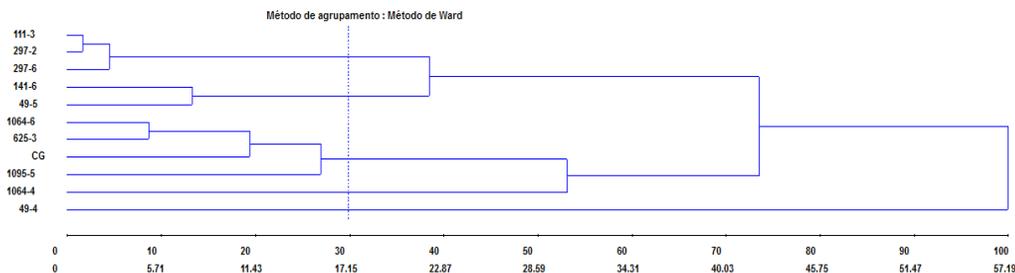


Figura 1. Agrupamento de Ward realizado com base na matriz de distâncias generalizadas de Mahalanobis em genótipos de *Stylosanthes capitata*.

**Tabela 1. Média fenotípica dos caracteres morfológicos avaliados em 10 genótipos selecionados de *Stylosanthes capitata***

Grupo	Caracteres morfológicos <sup>1</sup>								
	CFC	LFC	RFC	CFL	LFL	RFL	CH	AP	RAM
1	3,9	1,2	3,289	3,0	1,0	2,999	13,1	17,2	7,6
2	3,3	0,9	3,438	2,6	0,8	3,250	11,6	14,7	7,7
3	3,7	1,2	3,235	2,9	1,0	2,966	9,7	12,6	7,5
4	3,1	1,0	2,975	2,6	0,9	3,100	9,8	12,1	7,0
5	2,4	0,7	3,888	1,9	0,5	4,058	5,1	7,2	5,1

<sup>1</sup>CFC: comprimento do folíolo central; LFC: largura do folíolo central; RFC: relação comprimento:largura do folíolo central; CFL: comprimento do folíolo lateral; LFL: largura do folíolo lateral; RFL: relação comprimento:largura do folíolo lateral; CH: comprimento da haste; AP: altura da planta; RAM: ramificações secundárias.

características importantes, pois estão relacionadas ao número de gemas ativas, que por sua vez contribui para o processo de rebrotação após o pastejo. Essa característica foi mais intensa no grupo 2, mas também apresentou valores altos nos grupos 1 e 3. A relação entre o comprimento e a largura dos folíolos central e lateral foi maximizada no grupo 5, constituído pelo genótipo 49-4 (Figura 1). Além destas características, este genótipo foi caracterizado por menor porte geral com folíolos pequenos, haste de menor comprimento e menor altura de planta (Tabela 1). Estas características se traduziram em morfologia desfavorável ao processo de consorciação de pastagens, principal indicação de uso para plantas da espécie *Stylosanthes capitata*. De fato, a presença de folíolos mais estreitos, hastes mais curtas e menor altura tornam essas plantas menos eficientes na captação de luz em ambientes sombreados. Segundo GOBBI *et al.* (2009) o aumento da altura média de plantas de amendoim forrageiro esteve diretamente relacionado ao maior comprimento do pecíolo, da haste e da lâmina foliar, configurando resposta morfológica ao sombreamento.

A importância relativa das características para o estudo da diversidade genética entre as famílias foi avaliada por meio das variáveis canônicas. Nota-se grande eficiência nesta análise, uma vez que possibilitou resumir a variação observada em nove caracteres morfológicos em apenas três variáveis canônicas, que acumularam 81,65% da variação total dos dados (Tabela 2). Conforme CRUZ *et al.* (2004) a viabilidade do uso das variáveis canônicas como técnica para identificação de genótipos similares em gráficos bi ou tridimensionais depende da concentração da variância total disponível acima de 80% entre as primeiras duas ou três variáveis canônicas. Por meio desta análise também foi possível realizar o estudo da importância

relativa das características morfológicas para o agrupamento. Neste sentido, as variáveis de maior peso nos últimos autovetores associados aos autovalores de raiz característica inferior a 0,7, ou seja, naqueles de menor variância acumulada, são tidas como variáveis de pouca importância e baixa capacidade de discriminação.

As características de maior peso nos autovetores de menor variância acumulada, em ordem decrescente de magnitude, foram: comprimento dos folíolos central e lateral, altura da planta, comprimento da haste, comprimento e largura do folíolo lateral e largura do folíolo central. Estas características podem ser tidas como redundantes, ou com baixa capacidade de discriminação.

Por outro lado, as variáveis mais discriminatórias foram (sem ordem de importância): largura do folíolo central, relação comprimento largura dos folíolos central e lateral, largura do folíolo lateral e ramificações secundárias. Ressalta-se que características como o comprimento da haste e altura de plantas podem apresentar grande funcionalidade, pois permitem às plantas posicionar suas folhas em locais mais altos e ensolarados, resultando assim em maior tolerância ao sombreamento. Outra característica que pode assumir importância funcional é o número de ramificações secundárias que foi tida como característica divergente entre os genótipos.

A existência de variáveis redundantes do ponto de vista da diversidade genética também pode ser avaliada por meio dos coeficientes de correlação de Pearson, onde variáveis altamente correlacionadas podem pouco contribuir para a análise de diversidade. Nesse sentido, grande número de variáveis com coeficiente de correlação superior a 0,8 foi identificadas (Tabela 3). De acordo com RESENDE (2007), variáveis que apresentam correlações fenotípicas muito altas podem ser

**Tabela 2. Variáveis canônicas (VC), raiz característica ( $\lambda_j$ ), porcentagem da variância acumulada (%AC) e coeficientes de ponderação associados às variáveis canônicas**

VC	$\lambda_j$	%AC	Caracteres morfológicos <sup>1</sup>								
			CFC	LFC	RFC	CFL	LFL	RFL	CH	AP	RAM
Coeficientes de ponderação											
1	1,9489	34,08	3,945	-5,051	-3,313	-2,714	3,997	2,255	0,553	-1,121	1,108
2	1,9280	67,79	0,547	-3,561	-0,387	0,145	3,217	-0,941	1,664	-2,702	0,968
3	0,7926	81,65	-0,105	-0,641	0,585	1,950	-2,888	-1,437	0,516	1,008	-0,019
4	0,4185	88,97	-1,436	1,332	0,144	<u>-3,202</u>	2,268	0,804	2,194	-1,499	0,511
5	0,2644	93,59	-1,347	-0,576	-0,970	2,082	0,108	0,468	-1,914	<u>2,748</u>	-0,490
6	0,2148	97,35	0,139	-1,036	0,181	-0,316	1,253	-0,150	<u>3,969</u>	-2,588	-1,852
7	0,0729	98,62	-2,696	-1,332	1,479	0,645	2,238	-0,775	-4,919	<u>5,205</u>	0,099
8	0,0588	99,65	<u>2,398</u>	-1,586	-0,557	-2,199	1,974	0,702	-0,050	0,443	-0,001
9	0,0201	100,00	<u>-5,130</u>	1,079	2,193	4,218	-0,710	-1,153	1,845	-1,709	-0,112

<sup>1</sup>CFC: comprimento do folíolo central; LFC: largura do folíolo central; RFC: relação comprimento:largura do folíolo central; CFL: comprimento do folíolo lateral; LFL: largura do folíolo lateral; RFL: relação comprimento:largura do folíolo lateral; CH: comprimento da haste; AP: altura da planta; RAM: ramificações secundárias. Valores sublinhados indicam as características com coeficiente de ponderação de maior peso nos últimos autovetores associados às variáveis canônicas.

**Tabela 3. Coeficiente de correlação de Pearson entre os caracteres morfológicos avaliados em genótipos de *Stylosanthes capitata***

	Caracteres morfológicos <sup>1</sup>							
	LFC	RFC	CFL	LFL	RFL	CH	AP	RAM
CFC	0,937	-0,417	0,972	0,922	-0,700	0,655	0,697	0,590
LFC		-0,633	0,937	0,979	-0,818	0,668	0,705	0,582
RFC			-0,514	-0,695	0,877	-0,465	-0,437	-0,477
CFL				0,943	-0,701	0,642	0,683	0,596
LFL					-0,855	0,625	0,648	0,589
RFL						-0,599	-0,585	-0,592
CH							0,990	0,834
AP								0,802

<sup>1</sup>CFC: comprimento do folíolo central; LFC: largura do folíolo central; RFC: relação comprimento:largura do folíolo central; CFL: comprimento do folíolo lateral; LFL: largura do folíolo lateral; RFL: relação comprimento:largura do folíolo lateral; CH: comprimento da haste; AP: altura da planta; RAM: ramificações secundárias.

descartadas por não implicarem em melhor discriminação dos genótipos, o que também se aplica à correlação fenotípica. Por outro lado, VAN DE WOUW *et al.* (2008) e JORGE *et al.* (2008) afirmaram basear-se em correlações acima de 0,7 para o descarte de variáveis redundantes no estudo da diversidade genética.

Os maiores coeficientes de correlação foram registrados entre as variáveis de comprimento e largura dos folíolos centrais e laterais, confirmando o resultado da análise das variáveis canônicas. Também foram identificadas altas correlações entre comprimento da haste e altura de plantas e entre estas duas características e o número de ramificações secundárias, o que significa que a variação das duas anteriores pode ser resumida ao comprimento da haste.

## CONCLUSÃO

Os caracteres morfológicos largura do folíolo central, relação comprimento largura dos folíolos central e lateral, largura do folíolo lateral e ramificações secundárias figuram entre os de maior importância para a avaliação da diversidade genética entre genótipos de *Stylosanthes capitata*. A grande funcionalidade da variável ramificação secundária indica que esta apresenta grande potencial para ser utilizada na identificação dos genótipos e sua discriminação tanto para fins de registro e proteção de cultivares quanto em campos de produção de sementes comerciais.

As famílias 1064-4 e 1064-6, e 49-5 e 49-4 foram selecionadas em acessos de 1064 e 49, respectivamente, no entanto, estes têm se mostrado suficientemente divergentes para compor diferentes grupos. Famílias dos grupos 1 (genótipos 111-3, 297-2 e 297-6) e 3 (genótipos 1064-6, 625-3, Estilosantes Campo Grande (CG) e 1095-5) podem ser adequados para sistemas de produção em consórcio com gramíneas.

## REFERÊNCIAS

- CAMERON, D.F.; CHAKRABORTY, S. Forage potential of *Stylosanthes* in different production systems. In: CHAKRABORTY, S. **High-yielding anthracnose resistant *Stylosanthes* for agricultural systems**. Adelaide: Australian Centre for International Agricultural Research, 2004. p.27-38.
- CASAGRANDE, D.R.; SÁ, O.A.A.L.; LARA, M.A.S. Perspectivas de utilização de leguminosas em CARVALHO, A.L.S.; CUNHA, D.N.F.V.; LEONEL, F.P.; LADEIRA, M.V.; ALMEIDA, O.G. (ed.). **Simpósio de pastagens e forragicultura do campo das vertentes**. Anais... São João Del Rei: UFSJ, 2013. p.57-76.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa:UFV, 2004.
- CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2.ed. Viçosa: Editora UFV, 2006.
- CRUZ, C.D.; FERREIRA, F.M.; PESSONI, L.A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Viçosa: Suprema, 2011.
- GOBBI, K.F.; GARCIA, R.; GARCEZ NETO, A.F.; PEREIRA, O.G.; VENTRELLA, M.C.; ROCHA, G.C. Características morfológicas, estruturais e produtividade do capim braquiária e do amendoim forrageiro submetidos ao sombreamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.1645-1654, 2009.
- KARIA, C.T.; ANDRADE, R.P.; CHARCHAR, M.J.D.A.; GOMES, A.C. **Caracterização morfológica de acessos do gênero *Stylosanthes* no banco ativo de germoplasma da Embrapa Cerrados - coleção 1994/1995**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2002. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 72)
- KARIA, C.T.; ANDRADE, R.P. **Avaliação preliminar de espécies forrageiras no Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrado: perspectivas futuras**. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 8., 1996, Planaltina. **Anais...** Planaltina: Embrapa - CPAC, 1996. p.471-475.
- KOEPPEN, W. **Climatologia: con un estudio de los climas de la Tierra**. México: Fondo de Cultura Económica, 1948.
- JORGE, M.A.B.; VAN DE WOUW, M.; HANSON, J.; MOHAMMED, J. Characterisation of a collection of buffel grass (*Cenchrus ciliaris*). **Tropical Grasslands**, v.42, p.27-39, 2008.
- RESENDE, M.D.V. **Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético**. Colombo: Embrapa, 2007.
- VAN DE WOUW, M.; JORGE, M.A.; BIERWIRTH, J.; HANSON, J. Characterization of a collection of perennial *Panicum* species. **Tropical Grasslands**, v.42, p.40-53, 2008.