

Descritores morfológicos mínimos e normas para condução de ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade em *Stylosanthes guianensis* (Aubl.) Sw. e *Stylosanthes capitata* Vogel



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Gado de Corte
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Documentos 211

**Descritores morfológicos mínimos
e normas para condução de
ensaios de distinguibilidade,
homogeneidade e estabilidade em
Stylosanthes guianensis (Aubl.) Sw.
e *Stylosanthes capitata* Vogel**

Rosângela Maria Simeão
Allan Kardec Braga Ramos
Janaina Azevedo Martuscello
Thiago Gomes dos Santos Braz

Embrapa
Brasília, DF
2015

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Gado de Corte

Rodovia BR 262, Km 4, CEP 79002-970 Campo Grande, MS

Caixa Postal 154

Fone: (67) 3368 2090

Fax: (67) 3368 2150

<http://www.embrapa.br/gado-de-corte>

<https://www.embrapa.br/fale-conosco/sac>

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Ronney Robson Mamede*

Secretário-Executivo: *Rodrigo Carvalho Alva*

Membros: *Elane de Souza Salles, Lucimara Chiari, Davi José Bungenstab, Andréa Alves do Egito, Roberto Giolo de Almeida, Guilherme Cunha Malafaia*

Supervisão editorial: *Rodrigo Carvalho Alva*

Revisão de texto e Editoração Eletrônica: *Rodrigo Carvalho Alva*

Arte da capa: *Giselle Mariano Lessa de Assis*

1ª edição

Versão online (2015)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Gado de Corte.**

Descritores morfológicos mínimos e normas para condução de ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade em *Stylosanthes guianensis* (Aubl.) Sw. e *Stylosanthes capitata* Vogel [recurso eletrônico] / Rosângela Maria Simeão et al. - Campo Grande, MS : Embrapa Gado de Corte, 2015.
32 p. ; 21cm. - (Documentos / Embrapa Gado de Corte, ISSN 1983-974X ; 211).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader, 4 ou superior.

Modo de acesso: <<http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/doc/DOC211.pdf>>

Título da página da Web (acesso em 21 de novembro de 2015).

Outros autores: Rosângela Maria Simeão; Allan Kardec Braga Ramos; Janaina Azevedo Martuscello; Thiago Gomes dos Santos Braz.

1. Estilosantes. 2. Caracteres quantitativos. 3. caracteres qualitativos. 4. Produção de cultivares. 5. Caracteres pseudo-quantitativos. 6. Embrapa Gado de Corte. I. Simeão, Rosângela Maria. II. Ramos, Allan Kardec Braga. III. Martuscello, Janaina Azevedo. IV. Braz, Thiago Gomes dos Santos. V. Série.

CDD 633.2

© Embrapa Gado de Corte 2015

Autores

Rosângela Maria Simeão

Pesquisadora da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS

Allan Kardec Braga Ramos

Pesquisador da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF

Janaina Azevedo Martuscello

Professora da Universidade Federal de São João del-Rei, São João del-Rei, MG

Thiago Gomes dos Santos Braz

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, MG

Sumário

Introdução.....	7
Materiais e Métodos	11
Caracterização morfológica	11
Condução do ensaio para distinguibilidade em <i>Stylosanthes capitata</i> e <i>S. guianensis</i>	12
Descritores e intervalos de classificação.....	14
Resultados e Discussão.....	19
Validação.....	24
Considerações finais sobre distinguibilidade	28
Sugestão de normas experimentais para realização de ensaio de DHE em <i>Stylosanthes guianensis</i> (Aubl.) Sw. e <i>Stylosanthes capitata</i> Vogel.....	28
Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homo- geneidade e estabilidade de cultivares de estilosantes (<i>Stylosanthes</i> <i>guianensis</i> (Aubl.) Sw. e <i>S. capitata</i> Vogel)	29
Referências	31

6 | Descritores morfológicos mínimos e normas para condução de ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade em *Stylosanthes guianensis* (Aubl.) Sw. e *Stylosanthes capitata* Vogel

Introdução

Em 25 de abril de 1997, o governo brasileiro promulgou a primeira legislação que garantiu os direitos dos obtentores de novas variedades vegetais, a Lei nº 9.456, regulamentada pelo Decreto nº 2.366, de 5 de novembro de 1997. A Lei também criou, junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), a quem atribuiu a competência pela proteção de cultivares no país (MAPA-SNPC, 2010).

A realização de ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade - DHE e a apresentação dos descritores mínimos de novas cultivares são requisitos necessários para a obtenção do Certificado de Proteção. No Brasil, os ensaios de DHE são realizados por melhoristas obtentores da nova cultivar, em estações experimentais. Para fins de definição dos termos temos que: i. as características de distinguibilidade são as diferenças fenotípicas claras da nova cultivar de qualquer outra cuja existência na data do pedido de proteção seja reconhecida; ii. a homogeneidade trata da uniformidade entre as plantas dentro da mesma geração e iii. a estabilidade trata da manutenção das características através de gerações sucessivas da nova cultivar.

Os ensaios de DHE seguem metodologia própria para cada espécie e exigem do examinador um conhecimento aprofundado da espécie, seu comportamento, grupos e variedades existentes da mesma, sendo indispensáveis, em alguns casos, a utilização de cultivares de referência para a caracterização da nova cultivar (MAPA-SNPC, 2010). As orientações para elaboração da tabela de descritores mínimos para as cultivares de uma espécie ou para espécies em um mesmo gênero são descritas nos documentos da *International Union for the Protection of New Varieties of Plants – UPOV*, do qual o Brasil é signatário desde 23 de maio de 1999, quais sejam: TGP/1/3 – “General introduction to the examination of distinctness, uniformity and stability and the development of harmonized descriptions of new varieties of plants” (UPOV, 2002); TGP/9 – “Examining distinctness” (UPOV, 2008) e TGP/8 – “Trial

design and techniques used in the examination of distinctness, uniformity and stability” (UPOV, 2014a).

Os requisitos básicos para que uma característica atenda os critérios para ser usada nos testes de DHE, ou possibilitar uma descrição varietal, são de que a sua expressão:

- Seja resultante de um dado genótipo ou combinação de genótipos;
- Seja suficientemente consistente e repetível em um ambiente particular;
- Exiba variação suficiente entre variedades a fim de estabelecer a distinguibilidade;
- Seja precisa na definição e no reconhecimento;
- Atenda aos requisitos de uniformidade e de estabilidade.

No manual da UPOV TGP/1/3 (2002) foram definidos três tipos de características apropriadas aos testes de DHE, as qualitativas (QL), as quantitativas (QN) e as pseudo-qualitativas (PQ). Características qualitativas são aquelas cuja expressão é descontínua e seus estados são autoexplicativos e independentes. Além disso, geralmente não são influenciadas pelo ambiente, como por exemplo presença (9) ou ausência (1) de pubescência. As características quantitativas são aquelas cuja expressão cobre uma ampla escala de variação entre dois extremos, como por exemplo o comprimento do caule, o qual pode ser: muito curto (1), curto (3), médio (5), longo (7) ou muito longo (9), e a expressão pode ser unidimensional, contínua ou discreta. As características pseudo-qualitativas apresentam uma amplitude de expressão parcialmente contínua, mas varia em mais de uma dimensão e não pode ser adequadamente descrita definindo apenas os dois extremos de sua amplitude de variação, tem-se como exemplo a forma da semente, a qual pode ser: ovalada (1), elíptica (2) ou circular (3) em uma dada espécie.

A definição da distinguibilidade por meio de notas em caracteres qualitativos é geralmente mais rápida e de menor custo do que os que demandam análise estatística dos dados, como os quantitativos. Entretanto, essa abordagem qualitativa requer que a expressão da característica para uma variedade possa ser representada por um único dado. Isso implicaria em uma baixa variação dentro da variedade para todas as características, o que só é encontrado em variedades propagadas vegetativamente ou de autopolinização; ou ainda, para características qualitativas e pseudo-qualitativas em híbridos obtidos de cruzamentos entre linhagens endogâmicas. Assim, na definição de descritores em espécies cujas variedades são oriundas de polinização cruzada ou combinações de linhagens-irmãs, como é o caso das cultivares de *Stylosanthes guianensis* e *S. capitata*, ambas com sistema reprodutivo misto, o uso de análises estatísticas de dados quantitativos obtidos em experimentos é o procedimento mais comumente usado e recomendado.

A definição da escala de notas para caracteres qualitativos é relativamente simples, uma vez que será definida uma nota 1 ou 9 para presença ou ausência do caráter qualitativo. Assim, cultivares que apresentam diferentes expressões, isto é, diferentes notas para o mesmo caráter qualitativo, serão consideradas distintas e vice-versa.

Para os caracteres quantitativos é necessário determinar a amplitude apropriada para descrever uma característica, a qual depende da sua expressão na espécie e em espécies próximas, do mesmo gênero, por exemplo. Em geral, uma escala padrão de 1 a 9 é usada, mas escalas de 1 a 5 ou de 1 a 3 são também aceitas nos descritores (UPOV TGP/9, 2008). Assim, ao se decidir sobre o número de notas em uma característica quantitativa necessária para estabelecer o critério de distinguibilidade, a amplitude da escala deve ser definida com base em dados experimentais, obtidos de várias plantas e analisados estatisticamente. De acordo com o documento da UPOV TGP/8 (UPOV, 2014a), os princípios básicos para experimentação científica (repeti-

ção, casualização e controle local) são recomendados para o delineamento de experimentos para fins de DHE, bem como a realização de análises estatísticas dos dados.

Na página da internet da UPOV (http://www.upov.int/test_guidelines/en/) bem como no site do Ministério da Agricultura do Brasil (<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/registros-autorizacoes/protecao-cultivares/formularios-protecao-cultivares>) são apresentados os descritores mínimos para mais de 300 espécies vegetais para fins de proteção. Entretanto, ainda não há descritores mínimos para espécies do gênero *Stylosanthes* nesses órgãos reguladores nacional e internacional.

Zhang et al. (2014) do *Institute of Crops Genetics Resources*, China, publicaram uma lista de 24 características recomendadas para fins de ensaios de DHE em *Stylosanthes* spp., assim descritas: coloração do hipocótilo em plântulas; hábito de crescimento; altura da planta; tipo de tomento do caule; viscosidade no caule; coloração das folhas; forma da folha; comprimento da folha; largura da folha; tipo de folha; presença/ausência de tomento nas folhas; dias para florescimento; tipo de inflorescência; modo de inserção das espigas; estrias na pétala estandarte; cor da flor; forma da extremidade da planta; forma do fruto; presença de estilete residual encurvado no fruto; comprimento do estilete residual encurvado do fruto; pilosidade no fruto; forma da semente; cor do pericarpo e variação no pericarpo. Esses autores analisaram 192 acessos de 13 espécies, sendo que a maior representatividade na amostra foi para acessos de *S. guianensis* (75%). Entretanto, para as características quantitativas avaliadas, Zhang et al. (2014) não apresentaram as amplitudes para cada nível por eles definido, por exemplo, os níveis para altura da planta foram definidos como baixa, média e alta, mas sem uma referência adequada e sem a caracterização mensurável de cada um dos níveis. Isso torna bastante subjetiva a alocação de candidatas a cultivar em qualquer um dos níveis. A proposição de descritores para 13 espécies do gênero *Stylosanthes*, como a feita por Zhang et al. (2014), se aproxima mais de uma “chave botânica” para identificação de espécies do que

propriamente fornece informações orientadas para distinguibilidade de cultivares, conforme orientações da UPOV e MAPA-SNPC.

Com base nesses antecedentes, o presente estudo teve como objetivos contribuir com informações para a proposição de um conjunto mínimo de descritores morfológicos, com suas respectivas classes ou categorias de valores observados, para uso em ensaios de DHE de duas espécies de maior importância comercial em *Stylosanthes* spp. no Brasil, *S. guianensis* e *S. capitata* e validar os descritores propostos visando analisar a distinguibilidade de candidatas a cultivares das espécies *S. guianensis* e *S. capitata* em comparação com as cultivares de referência, já comercializadas, de ambas as espécies, *S. guianensis* cv. Mineirão e *S. capitata* cv. Campo Grande I. Além desses objetivos, propusemos normas para a realização de ensaios de DHE para o gênero *Stylosanthes*.

Materiais e Métodos

Caracterização morfológica

A proposição de descritores morfológicos para *Stylosanthes guianensis* e *S. capitata* foi realizada com base em três fontes de informação. A primeira foi com base no estudo de descritores morfológicos de acessos das duas espécies do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Cerrados, na região dos Cerrados do Distrito Federal (KARIA et al., 2002), no qual foram investigados 72 acessos de *S. guianensis* e 44 acessos de *S. capitata* para 11 características morfológicas quantitativas. A segunda fonte foi a avaliação morfológica para nove características quantitativas em 10 linhagens-irmãs de *S. capitata* avaliadas na Universidade Federal de São João del-Rei, na região do Cerrado de Minas Gerais (MARTUSCELLO et al., 2015). A terceira fonte de informação foi a avaliação de quatro linhagens-irmãs de cada uma das duas espécies numa experimentação realizada na Embrapa Gado de Corte, na região do Cerrado de Mato Grosso do Sul, na qual foram também utilizadas as cultivares Campo Grande I e Mineirão como testemunhas. Nesse último experimento foram avaliadas 20 características morfológicas distribuídas entre quantitativas, qualitativas e pseudo-qualitativas.

As avaliações realizadas nos diferentes locais ocorreram em anos diferentes e com delineamentos experimentais e tamanhos de parcelas distintos. Entretanto, houve uma sobreposição de sete características morfológicas quantitativas observadas nos três locais, para as quais foram tomados os intervalos de expressão a fim de realizar e definir os intervalos na tabela de descritores, conforme orientação dos manuais da UPOV. No documento UPOV TGP/7/1 (UPOV, 2014b) considera-se que, para características quantitativas, é necessário determinar a amplitude apropriada para descrevê-la. Em geral, há uma recomendação de uma escala de 1 a 9, mas escalas menores são também aceitas. Assim, ao se decidir sobre o número de notas necessárias para se estabelecer a distinguibilidade no DHE, a amplitude da escala precisa ser considerada apropriadamente.

Com base nessas orientações, o critério adotado para definir a escala de notas para os caracteres quantitativos foi de estimar a média geral para todas as características quantitativas obtidas pelas três fontes de informação e calcular o desvio padrão da média. Verificou-se que, para as sete características quantitativas comuns aos três locais, uma escala de cinco notas, variando em um e dois desvios padrões da média geral, para mais ou para menos, seria suficiente e adequado para caracterizar os indivíduos das duas espécies em uma amplitude representativa para a distinguibilidade. Para as características qualitativas foram designadas duas classes fenotípicas, com notas 1 ou 9, conforme orientação do manual UPOV (2002). Para as características pseudo-qualitativas foram sugeridas três classes com escala de notas que permitem valores intermediários.

Condução do ensaio para distinguibilidade em *Stylosanthes capitata* e *S. guianensis*

O experimento foi semeado em dezembro de 2010, na Embrapa Gado de Corte, em Campo Grande, MS, 20°28´ de latitude sul, 55°40´ de longitude oeste, altitude de 530 m. O solo da área experimental pode ser classificado como Haplic Ferralsol (Rhodic), de acordo com o manual de classificação de solos da FAO (2006). O clima, segundo classificação de Köppen, é do tipo Aw, tropical úmido, com estação chuvosa no verão e seca no inverno.

O delineamento adotado foi o de blocos completos, com três repetições e parcelas de 2,5 m x 5,0 m, com espaçamento entre parcelas de 1,5 m. O plantio foi realizado a cada 0,5 m na parcela e realizado um desbaste em cada cova em fevereiro de 2011, visando manter apenas uma planta por cova, o que resultou em um estande final de 60 plantas por parcela. As avaliações dos caracteres morfológicos foram realizadas na primeira quinzena de maio de 2011, em 20 plantas de cada parcela.

Os tratamentos foram quatro linhagens-irmãs de *S. capitata* e quatro de *S. guianensis*, tendo como testemunhas as cultivares Campo Grande I e Mineirão de cada uma das espécies, respectivamente. Foram avaliados os seguintes caracteres:

- Hábito de crescimento;
- Comprimento do folíolo central, em cm;
- Largura do folíolo central, em cm;
- Relação comprimento/largura do folíolo central;
- Comprimento do folíolo lateral, em cm;
- Largura do folíolo lateral, em cm;
- Relação comprimento/largura do folíolo lateral;
- Ciclo vegetativo: número de dias até o início do florescimento, contados a partir do dia primeiro de janeiro do ano seguinte ao plantio;
- Altura da planta, em cm;
- Pubescência nos folíolos;
- Densidade da pubescência nos folíolos;
- Pubescência no caule;

- Densidade da pubescência no caule;
- Cor da flor;
- Estrias na pétala estandarte;
- Número de espigas na inflorescência;
- Forma da semente;
- Semente: variação na cor do tegumento; e
- Cor do tegumento das sementes.

Os descritores avaliados nas folhas foram observados na última folha completamente expandida, a partir do ápice da planta. As características das inflorescências foram observadas quando o genótipo apresentava pleno florescimento. A altura da planta foi anotada antes da fase de pleno florescimento para os genótipos representantes de *S. guianensis* e *S. capitata*. Os frutos foram colhidos na época de máxima produção, a qual foi determinada semanalmente após o ápice do florescimento. Os frutos foram escarificados manualmente para as avaliações das características das sementes, quanto à forma e coloração.

Descritores e intervalos de classificação

Hábito de crescimento da planta



1- ereto



2- intermediário



3- prostrado

Figura 1. Ilustração representativa dos hábitos de crescimento comumente evidenciados nas espécies *S. capitata* e *S. guianensis*.

Folíolo Central e Lateral: largura e comprimento

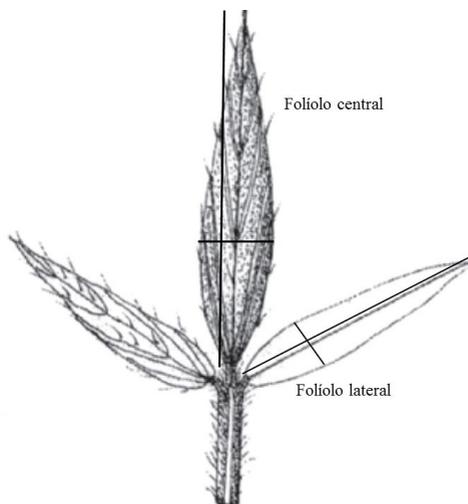


Figura 2. Ilustração e foto da forma da folha em espécies do gênero *Stylosanthes* spp. e estruturas a serem mensuradas, em largura e comprimento, nos folíolos central e lateral. (Fonte da ilustração: COSTA et al., 2008; Fonte da foto: Allan Kardec Braga Ramos)

Ciclo vegetativo: dias até o primeiro florescimento (50% das plantas com flores)

Considerar:

Precoce: até 120 dias a partir de 1 de janeiro do ano agrícola de plantio, primeiro ano, até a emissão de espigas;

Médio: de 121 a 149 dias

Tardio: de 151 dias ou mais.

Planta: altura natural

Essa característica deve ser observada imediatamente antes ou no início do florescimento.

Pubescência em folíolos



Figura 3. Pubescência em folíolos, sendo a foto superior mostrando folíolos glabros e a foto inferior, folíolos com pubescência densa (Fotos: Rosangela Maria Simeão).

Pubescência no caule



Figura 4. Pubescência no caule, sendo a foto superior mostrando caules glabros e a foto inferior, caules com pubescência densa (Fotos: Rosangela Maria Simeão).

Cor da flor



Figura 5. Variação na coloração das flores em *Stylosanthes* spp. do branco ao amarelo escuro, no sentido horário (Fotos: Rosângela Maria Simeão).

Flor: estrias na pétala estandarte (presença ou ausência)



Figura 6. Indicação da presença (foto à esquerda) ou ausência (foto à direita) de estrias na pétala estandarte em *Stylosanthes* spp. (Fotos: Allan Kardec Braga Ramos).

Semente: forma

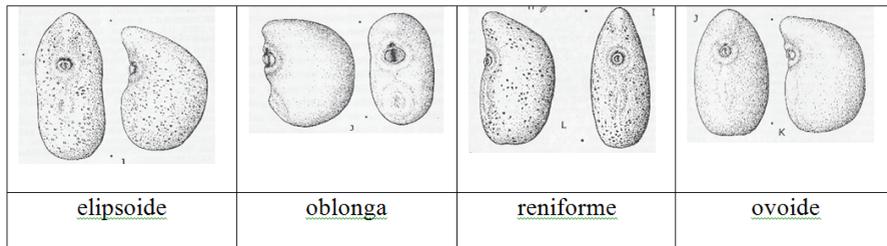


Figura 7. Formas da semente mais comumente evidenciadas em *Stylosanthes guianensis* e *S. capitata*. (Fonte das ilustrações: COSTA, 2006.)

Semente: cor do tegumento

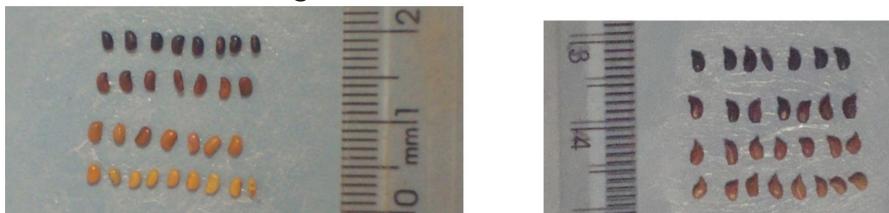


Figura 8. Exemplificação da variação na cor do tegumento (de amarela a preta) das sementes em uma mesma linhagem-irmã de *S. guianensis* (à esquerda) e *S. capitata* (à direita). (Fotos: Rosângela Maria Simeão)

As características fenotípicas dos indivíduos avaliados na validação em cada espécie foram ainda empregadas nas análises multivariadas pelos métodos de componentes principais e de divergência euclideana, bem como realizado o agrupamento pelo método de UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). O software *PAST* (HAMMER et al., 2001) foi utilizado para essas análises.

Resultados e Discussão

Os descritores apresentados na Tabela 1 se aplicam a todas as variedades de *Stylosanthes guianensis*, inclusive às suas variedades botânicas, e de *S. capitata*. Foram sugeridas 19 características, sendo sete delas

qualitativas, oito quantitativas e quatro pseudo-qualitativas, de acordo com a classificação da UPOV (2002).

As sugestões para os métodos de avaliação são:

- Número de ciclos de crescimento: dois ciclos de crescimento ou apenas um ciclo em mais de um local de avaliação.
- Condições para a condução dos testes: os testes devem ser realizados sob condições que garantam o crescimento satisfatório para a expressão das características relevantes das variedades e para aplicação do teste com os descritores.
- Observações: todas as observações para distinguibilidade, sejam elas visuais ou mensuráveis, devem ser realizadas em pelo menos 20 plantas individuais e não em partes das plantas.
- Todas as observações relativas à morfologia das folhas e flores devem ser realizadas no período de pleno florescimento.

Tabela 1. Descritores morfológicos propostos para uso em ensaio de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE) em cultivares candidatas de estilossantes (*Stylosanthes guianensis* (Aubl.) Sw. e *S. capitata* Vogel).

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição	Tipo*	Valor referencial
1. Hábito de crescimento	Ereto	1	QL	-
	Intermediário	2		
	Prostrado	3		
2. Folíolo central: comprimento	Curto	1	QN	< 1,5 cm
	Curto a médio	2		1,5 cm < x < 2,5 cm
	Médio	3		2,5 cm < x < 3,5 cm
	Médio a longo	4		3,5 cm < x < 4,5 cm
	Longo	5		> 4,5 cm

3. Foliolo central: largura	Muito estreito	1		< 0,3 cm
	Estreito	2		0,3 cm < x < 0,8 cm
	Estreito a Médio	3	QN	0,8 cm < x < 1,2 cm
	Médio	4		1,2 cm < x < 1,5 cm
	Largo	5		> 1,5 cm
4. Foliolo central: relação comprimento/ largura	Baixa	1		< 2,0
	Baixa a média	2		2,0 < x < 2,5
	Média	3	QN	2,5 < x < 3,5
	Média a alta	4		3,5 < x < 4,0
	Alta	5		> 4,0
5. Foliolo lateral: comprimento	Curto	1		< 1,5 cm
	Curto a médio	2		1,5 cm < x < 2,5 cm
	Médio	3	QN	2,5 cm < x < 3,5 cm
	Médio a longo	4		3,5 cm < x < 4,5 cm
	Longo	5		> 4,5 cm
6. Foliolo lateral: largura	Muito estreito	1		< 0,3 cm
	Estreito	2		0,3 cm < x < 0,7 cm
	Estreito a Médio	3	QN	0,7 cm < x < 1,0 cm
	Médio	4		1,0 cm < x < 1,3 cm
	Largo	5		> 1,3 cm
7. Foliolo lateral: relação comprimento/ largura	Baixa	1		< 1,5
	Baixa a média	2		1,5 < x < 2,0
	Média	3	QN	2,0 < x < 3,0
	Média a alta	4		3,0 < x < 4,0
	Alta	5		> 4,0

8. Ciclo vegetativo: dias até o início do florescimento	Precoce	3		< 120 dias
	Médio	5	PQ	121 a 149 dias
	Tardio	7		> 150 dias
9. Planta: altura da planta ao florescimento	Baixa	1		< 12 cm
	Baixa a média	2		12 cm < x < 20 cm
	Média	3	QN	20 cm < x < 50 cm
	Média a alta	4		50 cm < x < 90 cm
	Alta	5		> 90 cm
10. Foliolos: pubescência	Ausente	1	QL	-
	Presente	9		
11. Foliolos: densidade de pubescência	Glabra	1		
	Esparsa	3	PQ	-
	Densa	5		
12. Caule: pubescência	Ausente	1	QL	-
	Presente	9		
13. Caule: densidade da pubescência	Glabra	1		
	Esparsa	3	PQ	-
	Densa	5		
14. Flor: cor	Branca	1		
	Creme	2		
	Amarela clara	3	QL	-
	Amarela escura	4		

15. Flor: estrias na pétala estandarte	Presentes	1	QL	-
	Ausentes	9		
16. Inflo- rescência: número de espigas	Baixa	1		< 2,0
	Média	2	QN	2,0 < x < 4,0
	Alta	3		> 4,0
17. Semente: forma	Elipsoide	1	PQ	-
	Reniforme	2		
	Ovoide	3		
	Oblonga	4		
18. Semente: variação na cor do tegumento	Ausente	1	QL	-
	Presente	9		
19. Semente: cor do tegu- mento	Amarela	1	QL	-
	Amarela, alaranjada, marrom e preta	2		
	Amarela, mar- rom e preta	3		
	Marrom	4		
	Marrom, ver- melha e preta	5		
	Amarela, ver- melha, marrom e preta	6		
	Preta	7		

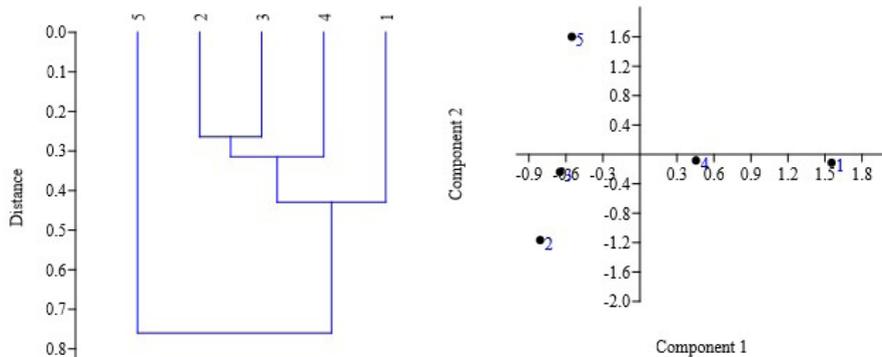
*Característica qualitativa (QL), quantitativa (QN) e pseudo-qualitativa (PQ).

Validação

Os descritores e intervalos propostos foram validados em quatro linhagens-irmãs de *S. guianensis* em comparação com a cv. Mineirão (Tabela 2) e em quatro linhagens-irmãs de *S. capitata* em comparação com a cv. Campo Grande I (Tabela 3). Com base nos descritores, verificou-se que 12 e 11 características morfológicas em *S. guianensis* e *S. capitata*, respectivamente, podem ser utilizadas na discriminação das candidatas a cultivar entre si e das cultivares utilizadas como referência.

Os resultados das análises multivariadas para as duas espécies são apresentados na Figura 9. Os resultados reforçam a eficiência das características analisadas na discriminação entre as candidatas a cultivar, indivíduos 1 a 4 em *S. guianensis* e 2 a 5 em *S. capitata*, em relação às testemunhas cv. Mineirão (indivíduo 5) e cv. Campo Grande I (indivíduo 1), para as duas espécies, respectivamente.

Stylosanthes guianensis



Stylosanthes capitata

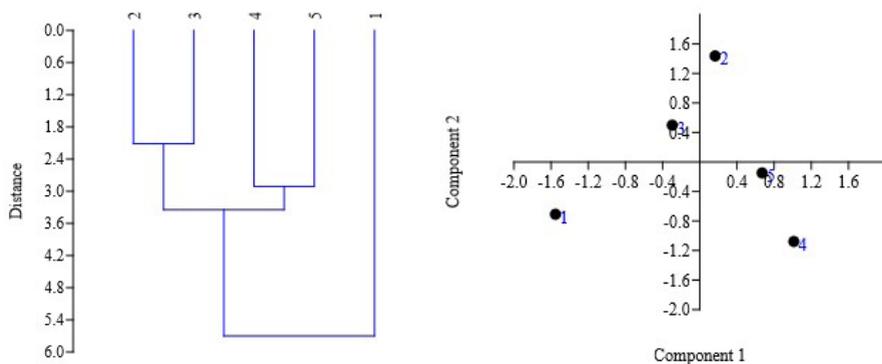


Figura 9. Agrupamento das linhagens-irmãs de *S. guianensis*, testemunha cv. Mineirão (indivíduo 5) e *S. capitata*, testemunha cv. Campo Grande I (indivíduo 1) pelo método de UPGMA, com base na distância Euclideana, e representação gráfica dos dois primeiros componentes principais para os genótipos analisados nas duas espécies.

Tabela 2. Descritores morfológicos com poder de discriminação e respectivas características de identificação nas candidatas a cultivares de *S. guianensis* em comparação com a cultivar de referência, cv. Mineirão

Linhagem	V2	V3	V4	V6	V7	V9	V10	V11	V12	V13	V14	V19
1	médio a longo	estreito	alta	estreito	alta	alta	ausente	glabra	ausente	glabra	amarela, relva marrom e preta	amarela, marrom e preta
2	médio	estreito	alta	estreito	alta	média a alta	ausente	glabra	ausente	glabra	amarela, marrom, vermelha, e preta	amarela, marrom, vermelha, e preta
3	médio a longo	estreito	média a alta	estreito	média a alta	média a alta	ausente	glabra	ausente	glabra	amarela, marrom, vermelha e preta	amarela, marrom, vermelha e preta
4	médio	estreito a médio	média a alta	estreito	alta	média a alta	ausente	glabra	presente	esparso	amarela, relva marrom e preta	amarela, marrom e preta
cv. Mineirão	médio	estreito a médio	média a alta	médio	média a alta	média a alta	presente	densa	presente	densa	amarela, relva marrom e preta	amarela, marrom e preta

V2: Folíolo central: comprimento; V3: Folíolo central: largura; V4: Folíolo central: relação comprimento largura; V6: Folíolo lateral largura; V7 Folíolo lateral: relação comprimento-largura; V9: Planta: altura ao florescimento; V10: Folíolos: pubescência; V11: Folíolos: densidade de pubescência; V12: Caule: pubescência; V13: Caule: densidade pubescência; V14: Flor: cor; V19: semente: cor do tegumento. Ver a Tabela 1 para associação entre as características de identificação e valores de referência dos descritores.

Tabela 3. Descritores morfológicos com poder de discriminação e respectivas características de identificação nas candidatas a cultivares de *S. capitata* em comparação com a cultivar referência, cv. Campo Grande I

Linagem	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V11	V13	V14	V16	V19
1	médio	médio	média	médio a longo	estrito a médio	média	glabra	espar-sa	creme	médio	amarela, marrom e preta
2	médio	médio	baixa a média	médio	médio	média	espar-sa	espar-sa	creme	médio	amarela, vermelha, marrom e preta
3	médio	estrito a médio	média a alta	médio	estrito	alta	glabra	glabra	creme	médio	marrom, vermelha e preta
4	médio	médio	média	médio a longo	médio	média	glabra	glabra	amarela clara	médio	amarela, marrom e preta
cv. Campo Grande I	curto	estrito	baixa	curto a médio	estrito	baixa	espar-sa	espar-sa	creme	baixo	amarela, marrom e preta

V2: Foliolo central: comprimento; V3: Foliolo central: largura; V4: Foliolo central: relação comprimento-largura; V5: Foliolo lateral: comprimento; V6: Foliolo lateral largura; V7: Foliolo lateral: relação comprimento-largura; V11: Foliolos: densidade da pubescência; V13: Caule: densidade pubescência; V14: Flor: cor; V16: Inflorescência: número de espigas; V19: semente: cor do tegumento. Ver a Tabela 1 para associação entre as características de identificação e valores de referência dos descritores.

Considerações finais sobre distinguibilidade

A proposição de uma lista mínima de descritores e de seus intervalos para a distinguibilidade em *Stylosanthes guianensis* e *S. capitata* vem atender a uma demanda dos melhoristas dessas espécies, uma vez que esses descritores são fundamentais para a elaboração de guias e formulários visando a proteção de cultivares.

Os descritores propostos foram eficientes na diferenciação de linhagens-irmãs, candidatas a cultivares, de *S. guianensis* e *S. capitata*, tanto entre si quanto em relação às cultivares comerciais tomadas como modelo. Esse resultado confirma a utilidade e a aplicabilidade dos descritores propostos e representam a contribuição brasileira para a formatação final dos critérios para DHE de *Stylosanthes* pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC-MAPA) e também pela UPOV, dada à importância comercial da espécie em vários países tropicais.

Sugestão de normas experimentais para realização de ensaios de DHE em *Stylosanthes guianensis* (Aubl.) Sw. e *Stylosanthes capitata* Vogel

Apesar do foco desse trabalho ser a proposição de descritores mínimos para verificação da distinguibilidade em estilosantes, acrescentamos, a título de sugestão, proposições complementares para a verificação da estabilidade e da homogeneidade em candidatas a cultivares. Essas proposições decorrem da experiência dos autores com a manutenção de coleções do gênero *Stylosanthes* spp., do conhecimento do modo de reprodução de ambas as espécies, do conhecimento da variabilidade genética e fenotípica dos acessos e da experiência na condução de experimentos de melhoramento nos quais são avaliados caracteres agrônômicos e morfológicos.

Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de estilosantes (*Stylosanthes guianensis* (Aubl.) Sw. e *S. capitata* Vogel)

Objetivo

Essas instruções visam estabelecer diretrizes para as avaliações de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE), uniformizando o procedimento técnico de comprovação de que a cultivar apresentada é distinta de outra(s) cujos descritores sejam conhecidos, que seja homogênea quanto às suas características em cada ciclo reprodutivo e estável quanto à repetição das mesmas características ao longo de gerações sucessivas. Aplicam-se às cultivares de estilosantes.

Amostra viva

a. Para atender ao disposto no art. 22 e seu parágrafo único da Lei 9.456 de 25 de abril de 1997, o requerente do pedido de proteção obrigará-se a manter e apresentar, ao SNPC, amostras vivas da cultivar objeto de proteção, como especificadas a seguir:

i- 50 g de sementes como amostra de manipulação (apresentar ao SNPC);

ii- 50 g de sementes como germoplasma (apresentar ao SNPC);

iii- 50 g de sementes mantidas pelo obtentor.

b. O material deverá apresentar vigor e boas condições sanitárias.

c. As sementes não devem ser tratadas, salvo em casos excepcionais, devidamente justificados.

d. A amostra deverá ser disponibilizada ao SNPC após a obtenção do Certificado de Proteção. Entretanto, sempre que durante a análise do pedido for necessária a apresentação da amostra para confirmação de informações, o solicitante deverá disponibilizá-la.

e. Além da aplicação do conjunto mínimo de descritores, para fins de distinção entre cultivares, na avaliação de homogeneidade de cultivares de sistema misto de reprodução e polinização aberta ou populações, deve-se considerar a faixa de variação e a frequência, observada através de plantas individuais, e determinar se é similar a variedades comparáveis, já conhecidas. Essas variações na candidata a cultivar protegida deverão ser significativamente menores que nas cultivares comparativas.

f. Em alguns casos, para características qualitativas e pseudoqualitativas, a grande maioria das plantas individuais da candidata a cultivar protegida devem ter expressões similares, sendo que plantas com expressões claramente diferentes podem ser consideradas como plantas atípicas. Nesses casos, o procedimento de avaliação com base em identificação de plantas atípicas é recomendado, sendo que o número de plantas atípicas na candidata a cultivar protegida não deve exceder o número de plantas atípicas observado nas cultivares comparativas.

Execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade – DHE

a. Cada teste deverá incluir no mínimo 60 plantas, as quais deverão ser distribuídas em pelo menos três repetições, com um espaçamento mínimo de 1,0 m x 1,0 m entre plantas em cada parcela. No caso de populações, o número mínimo de indivíduos deve ser superior a 60 plantas.

b. Os ensaios deverão ser informados ao SNPC/MAPA previamente à sua implantação e realizados por um período mínimo de um ano agrícola. Caso não se comprove claramente o DHE nesse período, os ensaios poderão ser conduzidos por mais de um ciclo de crescimento e/ou em outro local, reportando os resultados.

c. Os ensaios poderão ser conduzidos em um único local. Caso neste local não seja possível a visualização ou expressão de todas as características importantes para a discriminação na candidata a cultivar protegida, a mesma poderá ser avaliada em outro local.

d. Os ensaios de campo deverão ser conduzidos em condições que assegurem o desenvolvimento normal das plantas. Parcelas separadas (não contíguas) para observação e mensuração poderão ser usadas, se submetidas a condições ambientais similares.

e. Testes adicionais para propósitos especiais poderão ser estabelecidos.

Referências

COSTA, L. C.; SARTORI, A. L. B.; POTT, A. Estudo taxonômico de *Stylosanthes* (Leguminosae – Papilionoideae – Dalbergieae) em Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rodriguésia**, v. 59, n. 3, p. 547-572, 2008.

COSTA, N. M. S. Revisão do Gênero de *Stylosanthes* Sw. Universidade Técnica de Lisboa Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, 470p. 2006. (Tese de Doutorado).

FAO. **World reference base for soil resources**. 2006. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/agl/agll/docs/wsrr103e.pdf>. Acesso em 10 de janeiro de 2014.

HAMMER, O.; HARPER, D. T. A.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. **Paleontologia Electronica**, v. 4, n. 1; p. 1-9, 2001.

KARIA, C. T.; ANDRADE, R. P.; CHARCHAR, M. J. D'Á.; 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. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n. 72, 24p.). 2002.

MAPA – SNPC. Informações aos usuários de proteção de cultivares. Carta de Serviços ao Cidadão. 2010. 16p. Disponível em: www.agricultura.gov.br > Serviços > Proteção de Cultivares > Formulários para a Proteção de Cultivares. Acessado em: 01 de julho de 2015.

MARTUSCELLO, J. A.; BRAZ, T. G. S.; SILVEIRA, J. M.; SIMEÃO, R. M.; JANK, L.; FERREIRA, M. R.; CUNHA, D. N. F. V. Diversidade genética em acessos de *Stylosanthes capitata*. **Boletim da Indústria Animal**, 2015. (submetido à revista).

UPOV. Document TG/1/3. **General introduction to the examination of distinctness, uni-**

formity and stability and the development of harmonized descriptions of new varieties of plants. 2002. 26p.

UPOV. Document TGP/9. **Examining distinctness.** 2008. 36p.

UPOV. Document TGP/8. **Trial design and techniques used in the examination of distinctness, uniformity and stability.** 2014a. 122p.

UPOV. Document TGP/7/1. **Development of test guidelines.** 2014b. 80p.

ZHANG, L.; BAI, C.; YAN, L.; LIU G.; WANG, W.; JIA, Q.; DING, X. Diversity of *Stylosanthes* by using DUS testing and revision of testing guidelines. **Pratacultural Science**, v. 31, n. 10, p. 1976-1989, 2014.

Embrapa

Gado de Corte

CGPE 12354



Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

