**VARIABILIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE ESPÉCIES DE
Sesbania Scop. (LEGUMINOSAE): CARACTERIZAÇÃO
MORFOLÓGICA, AGRONÔMICA E ISOENZIMÁTICA**

ELIZABETH ANN VEASEY

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. **GERHARD BANDEL**

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura
"Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em Agronomia. Área de
Concentração: Genética e Melhoramento de Plantas.

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Janeiro - 1998

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Veasey, Elizabeth Ann

Variabilidade genética em acessos de espécies de *Sesbania* Scop. (Leguminosae):
caracterização morfológica, agronômica e isoenzimática / Elizabeth Ann Veasey. - -
Piracicaba, 1998.

142 p. : il.

Tese (doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1998.
Bibliografia.

1. Eletroforese em gel 2. Isoenzima 3. Leguminosa forrageira 4. Matéria seca 5.
Melhoramento genético vegetal 6. Morfologia vegetal 7. Plantula 8. Variabilidade
genética I. Título

CDD 633.3

**VARIABILIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE ESPÉCIES DE
Sesbania Scop. (LEGUMINOSAE): CARACTERIZAÇÃO
MORFOLÓGICA, AGRONÔMICA E ISOENZIMÁTICA**

ELIZABETH ANN VEASEY

Aprovada em: 24.04.1998

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Gerhard Bandel

ESALQ/USP

Prof. Dr. Roland Vencovsky

ESALQ/USP

Prof. Dr. Reinaldo Monteiro

IB/UNESP

Dr. Luiz Alberto Rocha Batista

CPPSE/EMBRAPA

Dr^a. Angela Maria Maluf

IB/SAA

Prof. Dr. GERHARD BANDEL

Orientador

*Ao nosso querido e saudoso mestre
Paulo Fodero Martins
que grande estímulo nos deixou
sempre nos ensinando e inspirando
e mostrando a beleza que há na vida
com serenidade e grande simplicidade*

Dedico ...

*A meus pais,
que muito me apoiaram
e a meus irmãos
Angela, Ronnie
e família*

Ofereço ...

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Gerhard Bandel pela disposição que demonstrou em nos orientar, e pela amizade e confiança que nos transmitiu.

Em especial, ao Prof. Dr. Paulo Sodero Martins (in memoriam) pelo estímulo sempre presente, pela alegria contagiante, pelo exemplo que nos deixou, e pelos papéis de orientador e amigo que soube exercer com sabedoria e graça.

Ao Prof. Dr. Roland Vencovsky pela orientação nas análises estatísticas, pela revisão e discussão dos trabalhos, e pela amizade, apoio e estímulo.

Ao Prof. Dr. Reinaldo Monteiro do Deptº de Botânica - IB/UNESP, Rio Claro, pela identificação das espécies de *Sesbania*, pela revisão geral dos trabalhos e pelo apoio e incentivo ao presente estudo.

Ao pesquisador Dr. Luis Rocha Batista do CPPSE/EMBRAPA, São Carlos, pelo apoio e auxílio prestado nas análises multivariadas.

Ao pesquisador Dr. Paulo Bardauil Alcântara, diretor geral do Instituto de Zootecnia, pelo apoio à realização do presente estudo.

À pesquisadora Dra. Eliana A. Schammas do Instituto de Zootecnia pelo auxílio nas análises estatísticas, pela revisão e discussão dos trabalhos.

Ao pesquisador Dr. Joaquim C. Werner, do Instituto de Zootecnia, pela orientação técnica, estímulo e amizade.

Ao pesquisador Dr. Darci A. Beisman, do Instituto de Zootecnia, pelo apoio demonstrado e auxílios prestados.

Aos Profs. Dr. Sérgio A. Vanin, da USP, São Paulo, e Dr. Roberto A. Zucchi, da ESALQ/USP, pela identificação dos insetos.

Ao Prof. Dr. Akihiko Ando pela amizade, apoio e estímulo.

Ao técnico de laboratório do Setor Genética Ecológica do Deptº de Genética da ESALQ Ronaldo Rabello pelo auxílio prestado e amizade.

Aos técnicos agropecuários e de laboratório Valmir, José Carlos, Aides, Ruth, e demais funcionários do Centro de Forragicultura e Pastagens do Instituto de Zootecnia, que muito nos auxiliaram nos experimentos de campo e no laboratório de sementes.

Às secretárias Carmem, Adriana e Léia do Departamento de Genética, e Cristina e Verônica, do Instituto de Zootecnia, que muito nos apoiaram durante a realização do trabalho.

À bibliotecária Eliana M. G. Sabino pelo auxílio prestado.

À colega Marta Organo Negrão, pela participação no experimento na fase de plântulas.

Aos colegas de curso e em especial aos colegas do Laboratório de Genética Ecológica do Deptº de Genética da ESALQ Nivaldo, Juliano, Inês, Rainério, Gilda, Geraldo, Fábio, Luciana, Tonel, Carlos, Cássio e Pedro, pela amizade gratificante, auxílios prestados e estímulo.

Ao Departamento de Genética da ESALQ/USP pela oportunidade que nos foi dada para a realização deste curso.

Ao Instituto de Zootecnia pelo fornecimento de sementes e pelo apoio e infraestrutura concedidos para a realização deste estudo.

Ao Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN/EMBRAPA), Brasília, DF, ao Henry Doubleday Research Association, Coventry, UK, e à Companhia do Vale do Rio Doce, Linhares, ES, pelo fornecimento de sementes.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

E a todos os demais que de alguma forma nos auxiliaram e incentivaram possibilitando a realização deste estudo.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	xi
RESUMO.....	xv
SUMMARY.....	xviii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Taxonomia e distribuição geográfica.....	4
2.2 Coleta e avaliação de germoplasma.....	6
2.3 Biologia reprodutiva.....	7
2.3.1 Biologia Floral.....	8
2.3.2 Fenologia.....	9
2.3.3 Modo de reprodução.....	10
2.4 Características climáticas e edáficas.....	11
2.5 Potencial agrônomo e forrageiro.....	13
2.6 Caracterização bioquímica.....	16
3 VARIABILIDADE GENÉTICA EM ESPÉCIES DE <i>Sesbania</i> SCOP. I. DESENVOLVIMENTO INICIAL E CARACTERIZAÇÃO DAS PLÂNTULAS.....	18
3.1 Resumo.....	18
3.2 Summary.....	19
3.3 Introdução.....	20
3.4 Material e métodos.....	21
3.5 Resultados e discussão.....	22
4 VARIABILIDADE GENÉTICA EM ESPÉCIES DE <i>Sesbania</i> SCOP. II. AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E AGRONÔMICA E ESTIMATIVA DE PARÂMETROS GENÉTICOS.....	32
4.1 Resumo.....	32
4.2 Summary.....	33
4.3 Introdução.....	34

4.4	Material e Métodos.....	36
4.5	Resultados.....	44
4.6	Discussão.....	56
5	VARIABILIDADE GENÉTICA EM ESPÉCIES DE <i>Sesbania</i> SCOP. III. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E AGRONÔMICA BASEADA NA ANÁLISE MULTIVARIADA.....	64
5.1	Resumo.....	64
5.2	Summary.....	65
5.3	Introdução.....	66
5.4	Material e Métodos.....	67
5.5	Resultados.....	70
5.5.1	Caracteres morfológicos.....	70
5.5.2	Caracteres agronômicos.....	74
5.5.3	Descarte de variáveis.....	78
5.6	Discussão.....	83
6	VARIABILIDADE GENÉTICA EM ESPÉCIES DE <i>Sesbania</i> SCOP. IV. CARACTERIZAÇÃO BASEADA NA ANÁLISE DE ISOENZIMAS.....	90
6.1	Resumo.....	90
6.2	Summary.....	91
6.3	Introdução.....	92
6.4	Material e métodos.....	93
6.4.1	Definição do protocolo para análise de isoenzimas em <i>Sesbania</i> ...	94
6.4.1.1	Tecido para extração de enzimas.....	94
6.4.1.2	Preparo do gel de amido.....	94
6.4.1.3	Sistemas-tampão gel/eletrodo, sistemas isoenzimáticos e tampão de extração.....	95
6.4.1.4	Procedimentos para extração de enzimas e corrida eletroforética.....	95
6.4.2	Análise dos dados.....	98
6.5	Resultados.....	99
6.6	Discussão.....	119
7	CONCLUSÕES GERAIS	124
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	128
	APÊNDICE 1 Descrição das abreviaturas utilizadas no presente estudo..	142

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 A) Plântula de <i>S. exasperata</i> com o eófilo 1 unifoliolado; B) plântula de <i>S. grandiflora</i> com dois eófilos unifoliolados opostos; C) plântula de <i>S. sesban</i> (NO 934) com o eófilo 1 trifoliolado.....	25
2 Altura média da planta aos 17, 32, 47 e 62 dias após a semeadura, para <i>S. exasperata</i> (1-3), <i>S. grandiflora</i> (4), <i>S. sesban</i> (5-10), <i>S. tetraptera</i> (11) e <i>S. virgata</i> (12-17).....	27
3 Comprimento médio do hipocótilo (CH) e do epicótilo (CEP) para <i>Sesbania exasperata</i> (1-3), <i>S. grandiflora</i> (4), <i>S. sesban</i> (5-10), <i>S. tetraptera</i> (11) e <i>S. virgata</i> (12-17).....	29
4 Comprimento médio (CE1) e largura média (LE1) do eófilo 1 para <i>Sesbania exasperata</i> (1-3), <i>S. grandiflora</i> (4), <i>S. sesban</i> (5-10), <i>S. tetraptera</i> (11) e <i>S. virgata</i> (12-17).....	29
5 Número de pares de folíolos do metáfilo 2 para <i>Sesbania exasperata</i> (1-3), <i>S. grandiflora</i> (4), <i>S. sesban</i> (5-10), <i>S. tetraptera</i> (11) e <i>S. virgata</i> (12-17).....	30
6 Dendrograma obtido pela análise de agrupamento, utilizando a distância Euclidean e o método UPGMA. Os acessos/espécies foram classificados nos seguintes grupos: I – <i>S. tetraptera</i> (11); II - <i>S. virgata</i> (13); III - <i>S. grandiflora</i> (4); IV - <i>S. sesban</i> (6-10); V - <i>S. sesban</i> (NO 934) (5); VI - <i>S. virgata</i> (12, 14-17); VII - <i>S. exasperata</i> (1-3).....	31
7 A) Fração folhas e fração hastes pesadas separadamente; B) corte à altura de 1m; C) parcelas de <i>S. exasperata</i> e <i>S. rostrata</i> após o corte; D) parcela de <i>S. sesban</i> (nº 9) após o corte.....	41
8 A) <i>S. sesban</i> (nº 9); B) variabilidade genética observada para <i>S. sesban</i> (nº 9) à esquerda e (nº 12) à direita; C) <i>S. sesban</i> (à esquerda) e <i>S. emerus</i> (à direita, final do ciclo); D) <i>S. virgata</i> (nº 22).....	54
9 Produção de matéria seca (MS) do 1º, 2º, 3º e 4º cortes (PMSF1, PMSF2, PMSF3, PMSF4) para <i>S. emerus</i> (1-2), <i>S. exasperata</i> (3-6), <i>S. grandiflora</i> (7), <i>S. rostrata</i> (8), <i>S. sesban</i> (9-14), <i>S. tetraptera</i> (15), e <i>S. virgata</i> (16-22)..	55

10	Altura da planta aos 6 meses (abr/95), 14 meses (dez/95) e 18 meses (abr/96) após a semeadura para <i>S. emerus</i> (1-2), <i>S. exasperata</i> (3-6), <i>S. grandiflora</i> (7), <i>S. rostrata</i> (8), <i>S. sesban</i> (9-14), <i>S. tetraptera</i> (15), e <i>S. virgata</i> (16-22).....	55
11	Gráfico de dispersão dos acessos de <i>S. emerus</i> (1-2), <i>S. exasperata</i> (3-6), <i>S. rostrata</i> (8), <i>S. sesban</i> (9-14), <i>S. tetraptera</i> (15) e <i>S. virgata</i> (16-22), e dos caracteres morfológicos descritos na Tabela 3.....	72
12	Dendrograma obtido pela análise de agrupamento para 17 caracteres morfológicos de <i>Sesbania</i> spp., utilizando distância Euclideana e método UPGMA. Grupos: I - <i>S. virgata</i> (16-22); II - <i>S. emerus</i> (2); III - <i>S. exasperata</i> (6); IV - <i>S. emerus</i> (1); V - <i>S. tetraptera</i> (15); VI - <i>S. exasperata</i> (3-5); VII - <i>S. rostrata</i> (8) e <i>S. sesban</i> (9-10, 12, 14).....	73
13	Gráfico de dispersão dos acessos de <i>S. emerus</i> (1-2), <i>S. exasperata</i> (3-6), <i>S. rostrata</i> (8), <i>S. sesban</i> (9-14), <i>S. tetraptera</i> (15) e <i>S. virgata</i> (16-22), e dos caracteres agrônômicos descritos na Tabela 17.....	76
14	Dendrograma obtido pela análise de agrupamento para nove caracteres agrônômicos de <i>Sesbania</i> , utilizando distância Euclideana e método UPGMA. Grupos: I - <i>S. sesban</i> (9); II - <i>S. sesban</i> (10, 12, 14); III - <i>S. virgata</i> (16-22) e <i>S. exasperata</i> (6); IV - <i>S. exasperata</i> (3-5) e <i>S. emerus</i> (2), V - <i>S. tetraptera</i> (15) e <i>S. rostrata</i> (8); VI - <i>S. emerus</i> (1)....	77
15	Dendrograma obtido pela análise de agrupamento com os oito caracteres selecionados de <i>Sesbania</i> , utilizando distância Euclideana e método UPGMA. Grupos: I - <i>S. virgata</i> (16-22); II - <i>S. sesban</i> (9, 10, 12, 14); III - <i>S. exasperata</i> (3-5), <i>S. rostrata</i> (8) e <i>S. tetraptera</i> (15); IV - <i>S. exasperata</i> (6) e <i>S. emerus</i> (2); V - <i>S. emerus</i> (1).....	82
16	A) <i>Eudiagogus episcopalis</i> ; B) <i>Epicauta atomaria</i> ; C) e D) <i>Apis mellifera</i> visitando flores de <i>Sesbania sesban</i> . Agentes polinizadores aumentam a taxa de cruzamento em <i>Sesbania</i>	87
17	Ilustração esquemática dos zimogramas dos sistemas PGM, PGI, GOT e MDH, para <i>S. emerus</i> (1-2), <i>S. exasperata</i> (3-6), <i>S. grandiflora</i> (7), <i>S. rostrata</i> (8), <i>S. sesban</i> (9-14), <i>S. tetraptera</i> (15), e <i>S. virgata</i> (16-22).....	100
18	Ilustração esquemática dos zimogramas dos sistemas ACP, IDH, PRX e CAT, para <i>S. emerus</i> (1-2), <i>S. exasperata</i> (3-6), <i>S. grandiflora</i> (7), <i>S. rostrata</i> (8), <i>S. sesban</i> (9-14), <i>S. tetraptera</i> (15), e <i>S. virgata</i> (16-22).....	101
19	Ilustração esquemática dos zimogramas com o padrão de bandas para os locos polimórficos MDH-2, PGI-2, GOT-2 e GOT-3, observados nas espécies <i>S. virgata</i> e <i>S. sesban</i>	103
20	Zimogramas, ainda em gel, para os sistemas PGI (A) e GOT (B) em <i>Sesbania sesban</i> , e MDH (C) em <i>S. virgata</i>	104

21	Dendrograma resultante da análise de agrupamento com dados de presença/ausência de bandas (88 bandas) para oito sistemas isoenzimáticos, utilizando índice de Jaccard (J) e método UPGMA. Grupos: I - <i>S. virgata</i> (16-22); II - <i>S. sesban</i> (9-14); III - <i>S. grandiflora</i> (7); IV - <i>S. exasperata</i> (6); V - <i>S. exasperata</i> (3-5); VI - <i>S. tetraptera</i> (15); VII - <i>S. rostrata</i> (8); VIII - <i>S. emerus</i> (1-2).....	106
----	---	-----

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Lista das espécies/acessos de <i>Sesbania</i> , e seus respectivos números de introdução (NO) no Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP, e origem do material. Experimento sobre “Desenvolvimento inicial e caracterização de plântulas de <i>Sesbania</i> ”.....	23
2 Médias, coeficientes de variação (CV), coeficientes de determinação genotípica (b) e coeficientes de variação genética (CV_g) estimados para os caracteres: comprimento do hipocótilo (CH) e do epicótilo (CEP), comprimento e largura do eófilo 1 (CE1 e LE1), número de pares de folíolos do metáfilo 2 (NPF), altura da planta aos 17 (APL1) e 62 (APL4) dias da semeadura para 17 acessos de <i>Sesbania</i>	26
3 Relação das espécies e acessos de <i>Sesbania</i> Scop. avaliados, com número de introdução (NO) no Banco de Germoplasma do Instituto de Zootecnia, e origem do material.....	38
4 Caracteres morfológicos avaliados em <i>Sesbania</i> spp.....	39
5 Caracteres agrônômicos avaliados em <i>Sesbania</i> spp.....	40
6 Esquema da análise de variância e esperanças dos quadrados médios utilizadas.....	42
7 Estimativa da variância entre e dentro de <i>Sesbania</i> spp. e dos coeficientes de variação (CV), de determinação genotípica intraespecífica (b_i) e de variação genética intraespecífica (CV_{gi}), para os caracteres morfológicos: início de florescimento (IFL), início de frutificação (IFR), diâmetro do caule (DC), comprimento da folha (CF), comprimento (CFOLI) e largura (LFOLI) do folíolo, número de pares de folíolos (NPF) e comprimento da inflorescência (CI).....	45

8	Estimativa da variância entre e dentro de <i>Sesbania</i> spp. e dos coeficientes de variação (CV), de determinação genotípica intraespecífica (b_i) e de variação genética intraespecífica (CVg_i), para os caracteres morfológicos: número de flores/inflorescência (NFL), comprimento do pedúnculo (CP), comprimento da flor (CFL), comprimento (CVAG) e largura da vagem (LVAG), comprimento (CS) e largura da semente (LS), número de sementes por vagem (NSV) e porcentagem de sementes granadas (SGR).....	46
9	Médias dos caracteres: início de florescimento (IFL) e de frutificação (IFR), diâmetro do caule (DC), comprimento da folha (CF), número de pares de folíolo (NPF), comprimento (CFOLI) e largura do folíolo (LFOLI), e comprimento da inflorescência (CI), avaliados em <i>Sesbania</i> spp.....	47
10	Médias dos caracteres: número de flores (NFL), comprimento do pedúnculo (CP), comprimento da flor (CFL), comprimento (CVAG) e largura da vagem (LVAG), número de sementes por vagem (NSV), porcentagem de sementes granadas (SGR), comprimento (CS) e largura da semente (LS), avaliados em <i>Sesbania</i> spp.....	48
11	Estimativa da variância entre e dentro de <i>Sesbania</i> spp. e dos coeficientes de variação (CV), de determinação genotípica intraespecífica (b_i) e de variação genética intraespecífica (CVg_i) para os caracteres agrônômicos: produção de matéria seca de folhas do 1º, 2º, 3º e 4º cortes (PMSF1, PMSF2, PMSF3, PMSF4), e produção de matéria seca de hastes do 1º, 2º e 3º cortes (PMSF1, PMSF2, PMSF3).....	50
12	Estimativa da variância entre e dentro de <i>Sesbania</i> spp. e dos coeficientes de variação (CV), de diversidade genotípica intraespecífica (b_i) e de variação genética intraespecífica (CVg_i), para os caracteres agrônômicos produção de MS de hastes do 4º corte, porcentagem de proteína bruta do 1º, 2º, 3º e 4º cortes (PB1, PB2, PB3, PB4), altura da planta no florescimento (AFL), altura da planta 18 meses após a semeadura (AP), e produção de sementes (PRS).....	51
13	Médias dos caracteres produção de matéria seca de folhas do 1º, 2º, 3º e 4º cortes (PMSF1, PMSF2, PMSF3, PMSF4), produção de MS de hastes do 1º, 2º, 3º e 4º cortes (PMSH1, PMSH2, PMSH3, PMSH4), avaliados em <i>Sesbania</i> spp.....	52
14	Médias dos caracteres proteína bruta do 1º, 2º, 3º e 4º corte, (PB1, PB2, PB3, PB4), altura da planta no florescimento (AFL), altura da planta 18 meses após a semeadura (AP), produção de sementes (PRS), e persistência das plantas não cortadas (P1) e das plantas cortadas (P2), avaliados em <i>Sesbania</i> spp.....	53

	Página
15 Amplitude de variação dos caracteres fenológicos e morfológicos das espécies <i>S. emerus</i> , <i>S. exasperata</i> , <i>S. sesban</i> e <i>S. virgata</i> , em comparação com os dados obtidos por Monteiro (1984) e Gutteridge et al. (1995) para <i>S. sesban</i>	60
16 Amplitude de variação dos caracteres morfológicos das espécies <i>S. grandiflora</i> , <i>S. rostrata</i> e <i>S. tetraptera</i> obtidos no presente estudo, em comparação com os dados obtidos por Monteiro (1984) para <i>S. grandiflora</i>	61
17 Caracteres agronômicos avaliados em espécies de <i>Sesbania</i> Scop.....	69
18 Estimativas das variâncias (autovalores), porcentagem acumulada dos componentes principais e respectivos coeficientes de ponderação (autovetores) para 17 caracteres morfológicos avaliados em 19 acessos de <i>Sesbania</i> spp.....	71
19 Médias dos grupos obtidos através da análise de agrupamento para dados morfológicos em <i>Sesbania</i> spp.....	74
20 Estimativas das variâncias (autovalores), porcentagem acumulada dos componentes principais e respectivos coeficientes de ponderação (autovetores) para 9 caracteres agronômicos avaliados em 19 acessos de <i>Sesbania</i> spp.....	75
21 Médias dos grupos obtidos através da análise de agrupamento para dados agronômicos em <i>Sesbania</i> spp.....	78
22 Estimativa dos coeficientes de correlação de Spearman significativos entre 17 caracteres morfológicos avaliados.....	79
23 Estimativa dos coeficientes de correlação de Spearman significativos entre nove caracteres agronômicos avaliados.....	80
24 Estimativas dos coeficientes de correlação de Spearman significativos entre os quatro caracteres morfológicos selecionados e os treze caracteres descartados.....	81
25 Estimativa dos coeficientes de correlação de Spearman significativos entre os cinco caracteres agronômicos selecionados e os quatro descartados.....	81
26 Médias dos grupos obtidos através da análise de agrupamento para dados morfológicos e agronômicos selecionados em <i>Sesbania</i> spp.....	83
27 Relação dos sistemas isoenzimáticos testados em espécies de <i>Sesbania</i>	96
28 Métodos de coloração empregados na revelação de isoenzimas em gel de amido em espécies de <i>Sesbania</i>	97

	Página
29	Frequências alélicas para os locos PGI-1, PGI-2, GOT-1, GOT-2 e GOT-3 dos acessos de <i>S. sesban</i> 107
30	Frequências genotípicas para os locos polimórficos PGI-2, GOT-2 e GOT-3, dos acessos de <i>S. sesban</i> 107
31	Frequências alélicas e genotípicas para o loco polimórfico PGI-2 das progênes do acesso nº 12 (NO 2419) de <i>S. sesban</i> 108
32	Frequências alélicas para os locos PGI-2, GOT-2 e GOT-3, das progênes do acesso nº 14 (NO 2567) de <i>S. sesban</i> 109
33	Frequências genotípicas para os locos PGI-2, GOT-2 e GOT-3, das progênes do acesso nº 14 (NO 2567) de <i>S. sesban</i> 110
34	Estimativas dos parâmetros: número médio de alelos por loco polimórfico (A), porcentagem de locos polimórficos (P), heterozigosidade média observada e esperada, e índice de fixação intrapopulacional de Wright (f) para acessos de <i>S. sesban</i> , e progênes do acesso nº 12 de <i>S. sesban</i> 111
35	Estimativas dos parâmetros: número médio de alelos por loco polimórfico (A), porcentagem de locos polimórficos (P), heterozigosidade média observada e esperada, e índice de fixação intrapopulacional de Wright (f) para as progênes do acesso nº 14 de <i>S. sesban</i> 112
36	Análise dos desvios do equilíbrio Hardy-Weinberg PGI-2, GOT-2 e GOT-3 dos acessos avaliados de <i>S. sesban</i> 113
37	Análise dos desvios do equilíbrio Hardy-Weinberg para os locos PGI-2, GOT-2 e GOT-3 das progênes dos acessos nº 12 (NO 2419) e nº 14 (NO 2567) de <i>S. sesban</i> 114
38	Frequências alélicas e genotípicas para o loco MDH-2 dos acessos de <i>S. virgata</i> e progênes do acesso nº 22 (NO 2565)..... 116
39	Estimativas dos parâmetros número médio de alelos por loco polimórfico (A), porcentagem de locos polimórficos (P), heterozigosidade média observada e esperada, e índice de fixação de Wright (f) para acessos de <i>S. virgata</i> e progênie do acesso nº 22..... 117
40	Análise dos desvios do equilíbrio Hardy-Weinberg dos acessos de <i>S. virgata</i> e progênie do acesso nº 22 (NO 2565)..... 118
41	Estimativa da diversidade genética (Nei, 1973) para <i>Sesbania sesban</i> e progênes dos acessos nº 12 e 24, e para <i>S. virgata</i> e progênie do acesso nº 22, para os locos em estudo..... 119

**VARIABILIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE ESPÉCIES DE *Sesbania* Scop.
(LEGUMINOSAE): CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA,
AGRONÔMICA E ISOENZIMÁTICA**

Autora: ELIZABETH ANN VEASEY
Orientador: Prof. GERHARD BANDEL

RESUMO

O estudo objetivou caracterizar através de dados morfológicos, agronômicos e bioquímicos, a variabilidade genética entre e dentro de espécies do gênero *Sesbania* Scop. (Leguminosae), comparar espécies perenes e anuais de diferentes subgêneros, originárias do Novo e do Velho Mundo, e avaliar o potencial forrageiro dessas espécies. Foram avaliadas as espécies *S. emerus*, *S. exasperata*, *S. rostrata*, *S. tetraptera* (anuais) e *S. sesban*, *S. grandiflora*, *S. virgata* (perenes).

Um ensaio preliminar foi instalado em casa-de-vegetação no Departamento de Genética da ESALQ/USP, em Piracicaba, SP, obtendo-se dados de morfologia de plântulas e crescimento inicial em 17 acessos de *Sesbania*. Foi instalado posteriormente no Instituto de Zootecnia em Nova Odessa, SP, um ensaio de campo em blocos ao acaso, avaliando-se 17 caracteres morfológicos e 17 agronômicos em 22 acessos de *Sesbania*. Os dados bioquímicos foram obtidos no Laboratório de Genética Ecológica, na ESALQ/USP, em Piracicaba, SP, através da análise de isoenzimas de cotilédones em gel de amido. Foram realizadas análises de variância uni e multivariadas, incluindo análises de componentes principais e agrupamento, realizando-se descarte de caracteres. Foram estimados os parâmetros genéticos: coeficiente de determinação genotípica e coeficiente de variação genética.

Observou-se variabilidade tanto inter como intraespecífica para a maioria dos caracteres, ao nível de plântulas e de plantas adultas. De modo geral, os valores dos coeficientes de determinação genotípica intrapopulacionais (b_i) foram elevados, acima de 0,80, para os dados morfológicos e agronômicos, indicando a possibilidade de seleção de genótipos superiores. Evidenciou-se variabilidade inter e intraespecífica nas análises de agrupamento, seja ao nível de plântulas, de plantas adultas, ou de isoenzimas. O acesso nº 6 de *S. exasperata* foi classificado em grupos distintos em todas as análises, mostrando grande variabilidade intraespecífica. O mesmo foi observado para *S. emerus*. *S. virgata*, do subgênero *Daubentonia*, originária do Novo Mundo, foi classificada em grupos distintos nas análises com dados morfológicos e de isoenzimas. O caráter largura da vagem foi o responsável pela diferenciação de *S. tetraptera*, única representante do subgênero *Pterosessbania*, originário da África. Um dos acessos de *S. sesban* (NO 934), subgênero *Sesbania*, destacou-se quanto à produção de biomassa e vigor de rebrota, mostrando-se promissor como planta forrageira. A representante do subgênero *Agati*, *S. grandiflora*, não se mostrou adaptada às condições de Nova Odessa, SP, apresentando crescimento inicial lento e não florescendo.

Foram observadas diferenças entre espécies anuais, apresentando maior esforço reprodutivo, e espécies perenes, por apresentarem maior produção de biomassa em detrimento da produção de sementes. A produção de biomassa do primeiro corte, seis meses após a semeadura, foi maior para as espécies anuais *S. exasperata*, *S. rostrata* e *S. tetraptera*, enquanto que as produções das espécies perenes foram superiores às anuais a partir do segundo corte, com pico de produção observado no terceiro corte.

O descarte de variáveis foi realizado através de componentes principais, selecionando-se oito de 26 caracteres morfológicos e agronômicos. Estes caracteres discriminaram os acessos e espécies, mostrando sua importância taxonômica e agronômica.

A maioria dos sistemas isoenzimáticos mostraram-se monomórficos dentro, e polimórficos entre espécies. Polimorfismo intraespecífico foi observado em *S. sesban*, para fosfoglucoase isomerase (PGI) e glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT), e *S. virgata*, para malato desidrogenase (MDH). As heterozigosidades médias

esperadas variaram de 0,0 a 0,232 para *S. sesban* e de 0,0 a 0,200 para *S. virgata*. O número médio de alelos por loco polimórfico foi dois para ambas as espécies, e a porcentagem de locos polimórficos 60% (acesso nº 14) e 20% para *S. sesban*, e 33,33% para *S. virgata*. Foram estimados índices de fixação intrapopulacionais negativos e próximos da unidade para *S. sesban* (acessos nº 9 e 10), indicando excesso de heterozigotos. O acesso nº 14 apresentou alto polimorfismo, mostrando-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os índices de diversidade obtidos indicam que 62,6 e 69,3% da variação total observada para *S. sesban* e *S. virgata*, respectivamente, resultou da variação entre acessos.

**GENETIC VARIABILITY IN ACCESSIONS OF *Sesbania* Scop. SPECIES
(LEGUMINOSAE): MORPHOLOGICAL, AGRONOMIC AND
ISOENZYMATIC CHARACTERIZATION**

Author: ELIZABETH ANN VEASEY

Adviser: Prof. GERHARD BANDEL

SUMMARY

This study seeks to characterize the genetic variability between and within species of *Sesbania* Scop. (Leguminosae) of Old and New World origin, using morphological, agronomic and biochemical data, for comparing perennial and annual species belonging to different subgenera, and to evaluate their forage potential. The species tested were: *S. emerus*, *S. exasperata*, *S. rostrata*, *S. tetraptera* (annuals) and *S. sesban*, *S. grandiflora*, *S. virgata* (perennials).

A preliminary trial was established in the greenhouse at the Genetics Department of ESALQ/USP, in Piracicaba, SP, Brazil, to obtain early growth and seedling morphology data from 17 *Sesbania* accessions. A field trial was established at the Instituto de Zootecnia in Nova Odessa, SP, Brazil, in a randomised complete block design with four replications, evaluating 17 morphological and 17 agronomic traits of 22 *Sesbania* accessions. Biochemical data was obtained from cotyledon isozyme analyses made at the Ecological Genetics Laboratory at ESALQ/USP in Piracicaba, SP, using starch gel electrophoresis techniques. Univariate and multivariate analyses of variance were carried out, including principal components and cluster analyses, with character discard from morphological and agronomic traits of

adult plants. Genetic parameters coefficient of genotypic determination and the coefficient of genetic variability were estimated.

Inter and intraspecific variability was observed for most characters, at the seedling stage and from adult plants. In general, the intrapopulational genotypic determination coefficients (b_i) for the morphological and agronomic data were high, above 0.80, indicating the possibility of superior genotype selection.

Both inter and intraspecific variability were made evident from the cluster analyses, which were complementary, be it at the seedling stage, from adult plants, or from isozyme data. Accession nº 6 of *S. exasperata* was classified in a distinct group in all the analyses, presenting high intraspecific variability. The same was observed for *S. emerus*. *S. virgata*, from subgenus *Daubentonia*, originated from the New World, was classified in distinct groups with morphological and isozyme data. The pod width trait was responsible for the differentiation of *S. tetraptera*, the sole representative of subgenus *Pterosessbania*, and native from Africa. Seedling and agronomic data classified one of the accessions of *S. sesban* (NO 934), subgenus *Sesbania*, in a separate group from the other accessions of this species, presenting higher biomass yields and regrowth vigor, and showing promise as a forage plant. The representative of subgenus *Agati*, *S. grandiflora*, did not adapt well to the conditions of Nova Odessa, SP, presenting slow early growth and did not flower.

Differences were observed between the annual species, showing greater reproductive effort, and the perennial species, that presented higher biomass yields in detriment of seed production. At the first cut, six months after sowing, biomass yields were higher for the annual species *S. exasperata*, *S. rostrata* and *S. tetraptera*, but from the second cut on, biomass production of perennial species was superior to the annuals. The highest yields were observed at the third cut.

Character discard selected eight from 26 morphological and agronomic characters. These characters discriminated the accessions and species, showing their taxonomic and agronomic importance.

Most isozyme systems were monomorphic within, and polymorphic among species. Intraspecific polymorphism was only observed in *S. sesban*, for phosphoglucosomerase (PGI) and glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), and in *S. virgata*, for malate dehydrogenase (MDH). The average expected heterozygosity

varied from 0.0 to 0.232 for *S. sesban* and from 0.0 to 0.200 for *S. virgata*. The mean number of alleles per polymorphic locus were two for both species, and the percentage of polymorphic loci was 60% for accession nº 14 and 20% for the other accessions of *S. sesban*, and 33.33% for *S. virgata*. Intrapopulation fixation indexes negative and close to one were estimated for accessions nº 9 and 10 of *S. sesban*, indicating excess of heterozygotes. Accession nº 14 of *S. sesban*, the most polymorphic one, showed Hardy-Weinberg equilibrium. The diversity indexes obtained indicate that 62.6 and 69.3% of total variation observed for *S. sesban* and *S. virgata*, respectively, are due to variation among accessions.

1 INTRODUÇÃO

O interesse no uso de leguminosas arbustivas e arbóreas como fonte de forragem para os animais tem sido crescente nos últimos anos, particularmente nos trópicos e subtropicais, uma vez que elas oferecem vantagens sobre muitas das espécies herbáceas em termos de alta produtividade e persistência, enraizamento profundo, flexibilidade de manejo e na habilidade de reter forragem de alta qualidade em épocas de baixa umidade do solo e baixas temperaturas (Gutteridge, 1990; Shelton et al., 1991). As árvores fornecem sombra, biomassa e proteção física ao solo, sendo que seus efeitos podem se manifestar de várias formas, afetando ao mesmo tempo o meio ambiente, a produção, a qualidade da forragem, a gramínea associada e os animais (Carvalho, 1994). Outra questão importante a se considerar, é o fato da vegetação nativa em regiões tropicais e subtropicais ser frequentemente do tipo floresta ou savana/floresta, apesar da existência de populações moderadamente altas de animais herbívoros, sugerindo que as árvores e arbustos possuem uma vantagem ecológica sobre uma pastagem totalmente herbácea (Gray, 1970).

Das leguminosas arbustivas, a *Leucaena leucocephala* tem sido a espécie mais utilizada tanto em bancos de proteína, como em sistemas de produção animal (Shelton et al., 1991; Lourenço et al., 1996). No entanto, a leucena apresenta algumas limitações, tais como a demora no estabelecimento, sendo suscetível à competição com plantas daninhas e, tanto na Austrália como no sudeste da Ásia, ao inseto *Heteropsylla cubana* (Bray & Sands, 1987).

O gênero *Sesbania* tem sido considerado como uma das principais alternativas ao cultivo da *Leucaena* (Wandera et al., 1991). Diversas espécies anuais e perenes mostram-se promissoras, apresentando rápido crescimento e altos níveis de fixação de nitrogênio, podendo ser utilizadas como forrageira, adubo verde, melhoramento da fertilidade do solo, fornecimento de madeira, lenha, sombra, e em sistemas agroflorestais tradicionais (Ndoye et al., 1990; Macklin et al., 1990; Bray,

1994). Algumas espécies, como *Sesbania grandiflora*, são utilizadas para fins medicinal e culinário, consumindo-se suas folhas e flores, e como suporte para plantações de pimenta, como fornecedora de sombra para plântulas de coqueirais, e como quebra-vento em plantações de banana em Tamil Nadu, na Índia (Peter & Devadas, 1989). O gênero inclui também espécies tolerantes a solos salino-alcálinos, a seca e a inundações periódicas, além de apresentar considerável variação intraespecífica, possibilitando a sua exploração em programas de melhoramento (Harris et al., 1989).

Os objetivos deste estudo foram: 1) caracterizar através de dados morfológicos, agrônômicos e bioquímicos, a variabilidade genética entre e dentro de espécies do gênero *Sesbania* Scop.; 2) obter parâmetros genéticos para os caracteres avaliados; 3) definir quais os caracteres mais importantes para a discriminação do material; 4) definir padrões de bandas isoenzímicas; 5) comparar espécies de quatro subgêneros diferentes que apresentam originalmente áreas de ocorrência distintas: subgên. *Sesbania* (*S. emerus*, *S. exasperata*, *S. rostrata* e *S. sesban*), originário do Velho Mundo; subgên. *Agati* (*S. grandiflora*), originário do Velho Mundo, como Austrália e Ásia; subgên. *Daubentonia* (*S. virgata*), originário do Novo Mundo; e subgên. *Pterosesbania* (*S. tetraptera*), originário da África; 6) comparar o comportamento de espécies perenes (*S. sesban*, *S. grandiflora* e *S. virgata*) e espécies anuais (*S. emerus*, *S. exasperata*, *S. rostrata* e *S. tetraptera*); e 7) avaliar o potencial forrageiro dessas espécies.

O estudo foi dividido em quatro trabalhos individuais (itens 3, 4, 5 e 6), correlacionados de modo a atingir os objetivos propostos sob a ótica da variabilidade genética. O primeiro trabalho avalia 17 acessos de *Sesbania* spp. em casa-de-vegetação, num experimento preliminar visando a caracterização das plântulas e a avaliação do crescimento inicial através de quatro medições subsequentes de altura das plântulas. O segundo e o terceiro trabalhos se referem à avaliação e caracterização morfológica e agrônômica de 22 acessos de *Sesbania* spp. No segundo trabalho, realizou-se a análise univariada dos dados e a estimativa de parâmetros genéticos para cada caráter avaliado. No terceiro trabalho, realizaram-se as análises de componentes principais e de agrupamento, com o objetivo de agrupar os acessos e espécies de modo a caracterizar a variabilidade inter e intraespecífica existente no material avaliado. Foi também objetivo deste trabalho a seleção de caracteres

morfológicos e agronômicos de importância para a discriminação dos acessos e espécies. O quarto trabalho se refere à análise de eletroforese de isoenzimas realizada com os mesmos acessos avaliados nos itens 4 e 5, visando a caracterização isoenzimática dos acessos e espécies em estudo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Taxonomia e distribuição geográfica

Da família Leguminosae, subfamília Papilionoideae e tribo Robinieae (Monteiro, 1984), o gênero *Sesbania* Scop. é composto por cerca de 60 espécies distribuídas nos trópicos e subtropicais (Evans, 1990), geralmente associadas a locais úmidos, como várzeas ou beira de cursos de água (Rocha et al., 1979). É o único gênero da tribo Robinieae que possui o número básico de cromossomos $x=6$, e também o único taxon desta tribo a ter alguns de seus membros nativos do Velho Mundo (Evans, 1990). A tribo Robinieae engloba 21 gêneros originários principalmente da América Latina (Brewbaker, 1990).

O gênero é pouco representado na flora brasileira, com oito espécies nativas do Novo Mundo, cujo valor econômico, exceto as espécies exóticas *S. emerus* (Aubl.) Urb. (adubo verde) e *S. punicea* (Cav.) Benth. (planta daninha nos E.U.A. e África do Sul; ornamental em vários países), ainda é desconhecido (Monteiro, 1984). O gênero possui espécies anuais ou perenes, de hábito herbáceo, arbustivo ou arbóreo. As plantas apresentam, segundo Monteiro (1984), ramos lisos a estriados ou tetra-angulados; folhas alternadas, paripinadas, multifolioladas; ráceros axilares, menores que as folhas (exceto *S. sesban*); flores glabras, com um pedicelo delgado, geralmente amarelas, mas com o estandarte com pontos ou estrias verdes ou vermelhas; ou totalmente brancas a rosadas (subgênero *Agati*); ou vermelhas (*S. punicea*, subgênero *Daubentonia*); possui 10 estames diadelfos; vagens coriáceas, compridas e finas, deiscentes e bivalvas; ou tetra-anguladas ou tetra-aladas, oblongo-linear, indeiscentes, com 4 a 9 sementes; sementes lisas e de coloração marrom. O número de cromossomos predominante é $2n=12$ (Monteiro, 1984; Parihar & Zadoo, 1987; Evans, 1988; Joshua & Bhatia, 1989; Salimuddin & Ramesh, 1993; Heering & Hanson, 1993;

Forni-Martins et al., 1994), com algumas espécies tetraplóides, $2n=24$, tais como *S. grandiflora*, *S. bispinosa*, *S. coccinea*, *S. formosa*, *S. tomentosa*, *S. cannabina* e *S. sericea* (Frahm-Leliveld, 1953; Monteiro, 1984; Evans, 1988; Joshua & Bhatia, 1989; Bairiganjan & Patnaik, 1989).

As espécies encontram-se distribuídas em quatro subgêneros: *Agati*, *Daubentonia*, *Pterossesbania* e *Sesbania*. O subgênero *Sesbania* apresenta o maior número de espécies, com 30 espécies, 11 subespécies e 30 variedades distribuídas na África e Arábia Saudita; nove espécies e quatro variedades na Austrália; dez espécies na Ásia, e seis espécies no Novo Mundo, sendo que destas três são introduzidas (Monteiro, 1984). Dentre as espécies perenes deste subgênero, apenas a *S. sesban* (L.) Merrill (sin. *S. aegyptiaca* (Willd.) Pers.) tem sido amplamente utilizada na agricultura (Brewbaker et al., 1990). Segundo os autores, esta espécie não tem sido adequadamente estudada ou avaliada para fins agronômicos. É uma espécie altamente polimórfica (Bray, 1994). A mesma foi botanicamente dividida em duas subespécies: ssp. *sesban*, com quatro variedades, e ssp. *punctata*. A primeira encontra-se largamente distribuída pelos trópicos e subtropicais da África, Ásia e parte do Novo Mundo, incluindo o Brasil, enquanto que a ssp. *punctata* ocorre principalmente no oeste da África e em algumas regiões do centro e sudeste daquele continente (Monteiro, 1984). As diferenças entre variedades não correspondem necessariamente ao seu valor agronômico. As variedades *S. sesban* var. *sesban* e *S. sesban* var. *bicolor* são muito semelhantes, exceto pela coloração da flor. Essas duas variedades mais a *S. sesban* var. *nubica* têm apresentado crescimento vigoroso e altas produções. Já as espécies *S. sesban* ssp. *sesban* var. *zambesiaca* e *S. sesban* ssp. *punctata* são menos conhecidas (Brewbaker et al., 1990).

Nas Américas, o subgênero *Sesbania* está representado pelas espécies *S. bispinosa*, *S. sericea*, *S. sesban*, *S. emerus*, *S. oligosperma* e *S. exasperata* (Monteiro, 1984). Esta última foi descrita por Ducke (1949) como "erva alta com grandes flores dum amarelo intenso, freqüente em enseadas rasas de lagos e em pântanos abertos ao sol, encontrando-se por todo Pará e Amazonas mas sobretudo na vizinhança dos campos de várzea". As espécies *S. bispinosa*, *S. sericea* e *S. sesban* são introduzidas nas Américas (Monteiro, 1984).

Do subgênero *Agati*, *S. grandiflora* (L.) Pers., originária do Velho Mundo e hoje mundialmente dispersa, tem sido extensivamente utilizada, juntamente com *S.*

sesban, em sistemas agroflorestais tradicionais (Sandys-Winsch & Harris, 1992). *S. grandiflora* é proximamente relacionada à *S. formosa* (F. Muell.) Burb., também do subgênero *Agati* e nativa da Austrália (Brewbaker et al., 1990).

As espécies com vagens tetra-aladas foram divididas em dois subgêneros, sendo que um deles, subgên. *Daubentonia*, é nativo do Novo Mundo com cinco espécies, dentre elas *S. virgata* (Cav.) Pers. e *S. punicea* (Monteiro, 1984), ambas de grande ocorrência no Estado de São Paulo, geralmente associadas a beira de rios ou brejos. Essas espécies têm sido cultivadas como ornamentais, mas suas sementes são consideradas tóxicas (Tsuhaiko et al., 1989; Brewbaker et al., 1990). O subgênero *Pterosessbania*, também com vagens tetra-aladas, é representado por apenas uma espécie, *S. tetraptera* (Hoechst ex Baker), distribuída no sul da África (Monteiro, 1984).

2.2 Coleta e avaliação de germoplasma

Coletas de germoplasma de *Sesbania* spp. e avaliações do material coletado têm sido realizadas pela Universidade do Havaí, no Havaí, pelo International Livestock Centre for Africa (ILCA) na Etiópia (Bray, 1994) e Tanzânia (Mengistu, 1990), pelo Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO) na Austrália (Wood & Larkens, 1987), pelo International Centre for Research in Agroforestry (ICRAF) no Quênia (Ndungu et al., 1994) e também pela ação conjunta do Consultative Group on International Agricultural Research (CGIAR) e National Agricultural Research Services (NARS) em cinco países da África, em colaboração com o International Board of Plant Genetic Resources (IBPGR), ICRAF e ILCA (Ndungu & Boland, 1994).

Wood & Larkens (1987) apresentam dados de crescimento e características das plantas de 192 acessos do gênero *Sesbania*, dos quais 28 espécies e seis variedades botânicas foram identificadas no sudeste de Queensland, Austrália. Mengistu (1990) relata a coleta de 161 acessos representando 12 espécies coletadas em várias zonas ecológicas da Tanzânia. A maioria dos acessos coletados pertencem às espécies *S. sesban* (65 acessos) e *S. macrantha* (45 acessos), refletindo a ampla distribuição dessas espécies na Tanzânia, considerada o centro de diversidade do

gênero na África (Ndungu et al., 1994). Mengistu (1990) observou também grande polimorfismo para *S. sesban*, com variações no tamanho, produção de sementes, enfolhamento, ocorrendo em grande amplitude de ambientes, como altitude (200 a 2200m), precipitação (600 a 1400mm, média anual), vegetação (savanas, estepe, floresta tropical, semi-árida) e grande variedade de solos. *S. rostrata* foi coletada principalmente em áreas de depressões ou planícies semi-áridas e vales quentes, apresentando numerosos nódulos aéreos no caule e nos ramos laterais. Esta espécie vem despertando grande interesse devido, principalmente, à grande capacidade de fixação de nitrogênio atmosférico através de nódulos radiculares e caulinares, sendo que esses últimos são fotossintéticos, apresentando cloroplastos em toda extensão do córtex (Veasey & Valarini, 1997). Ndungu et al. (1994) coletaram acessos de *S. sesban* var. *nubica* e *S. keniensis* na Nairobia, Quênia, em populações geralmente pequenas, com 5 a 20 indivíduos, e verificaram que *S. keniensis* está associada a beira de rios, o que não ocorre com *S. sesban*.

No Brasil, Rocha et al. (1979) coletaram dez acessos correspondendo a quatro espécies (*S. exasperata*, *S. punicea*, *S. sesban* e *S. virgata*), durante a condução do Projeto "Coleta e Introdução de Leguminosas Forrageiras", financiado pelo Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico (BNDE), em convênio envolvendo o Instituto de Zootecnia e a Universidade de Campinas (UNICAMP), de 1976 a 1978. Segundo os autores, fazia-se necessária a delimitação e distribuição do gênero no Brasil para se dispor de maiores subsídios sobre o mesmo. Tais estudos, envolvendo a taxonomia e distribuição do gênero no Brasil e em outros países do Novo Mundo foram conduzidos por Monteiro (1984). Segundo este autor, qualquer programa de melhoramento de *Sesbania* deveria incluir um estudo preliminar do potencial das espécies originárias do Novo Mundo, de modo a estabelecer sua variabilidade genética e relação com as espécies do Velho Mundo, o que é um dos objetivos do presente estudo.

2.3 Biologia reprodutiva

O conhecimento da biologia de polinização e modo de reprodução é essencial para se determinar os padrões de fluxo gênico e recombinação genética

entre e dentro de populações, o procedimento adequado de amostragem durante um programa de coleta de germoplasma, e garantir que as características de um determinado acesso serão reproduzidas tão fielmente quanto possível durante a multiplicação e regeneração de plantas (Heering, 1994).

As informações sobre biologia reprodutiva em espécies de *Sesbania* são ainda muito limitadas (Brewbaker, 1990), sendo necessárias para a condução de programas de melhoramento. Estudos neste sentido foram conduzidos mais recentemente com as espécies *Sesbania sesban*, *S. goetzei*, *S. keniensis* e *S. cannabina* (Sedi & Humphreys, 1992; Heering & Hanson, 1993; Owuor & Owino, 1993; Heering, 1994).

2.3.1 Biologia floral

As flores das sesbanias são vistosas e de formato tipicamente Papilionoideae. As cinco pétalas são modificadas para formar um estandarte amplo servindo de atrativo para insetos, uma quilha protegendo a coluna estaminal, e asas laterais servindo de atrativos e plataformas de pouso para polinizadores e de alavancas que se abrem quando a quilha é pressionada (Brewbaker, 1990). A exposição do pólen e do estigma através de um arranjo valvular simples dos estames e do estigma, permite que essas estruturas possam emergir da quilha à medida que a pressão do inseto visitante continua, para depois voltar à sua posição inicial quando cessa a pressão. Este mecanismo permite às flores receber repetidas visitas, o que possibilita, provavelmente, a ocorrência tanto de polinizações cruzadas como de autopolinizações (Monteiro, 1984).

As sesbanias são polinizadas por muitas espécies tropicais de abelhas, tendo como polinizador comum o gênero *Xylocopa* (abelha carpinteira), tais como *X. flavorufa*, *X. somalica* e *X. sonorina*. Tais espécies são grandes o suficiente para forçar a quilha para baixo e permitir o pouso. A abelha melífera (*Apis mellifera*), e as abelhas *Megachile bituberculata* e *Chalicodoma* sp. também são visitantes freqüentes em flores de *Sesbania* (Heering, 1994). As flores grandes das espécies *S. grandiflora* e *S. formosa* (subgên. *Agati*) não são adaptadas à polinização por abelhas, sendo possivelmente polinizadas por pássaros, incluindo as espécies *Corvus splendens*, *Molpastes cafer* e *Leptoconia* spp. (Brewbaker, 1990).

As flores das sesbanias estão dispostas em ráceros axilares contendo 3 a 20 flores para *S. sesban*, 2 a 4 flores para *S. goetzei* e 1 a 2 flores para *S. keniensis* (Heering, 1994). O número de flores por rácero descrito por Evans (1990) varia de 4 a 20 para *S. sesban* (var. *sesban* e var. *nubica*), de 1 a 2 para *S. keniensis*, de 1 a 4 para *S. goetzei*, concordando com os dados obtidos por Heering (1994) para essas espécies, variando também de 4 a 15 para *S. dummeri* e de 6 a 20 para *S. macrantha*.

Os grãos de pólen das sesbanias são emitidos em abundância e são pequenos, binucleados e tricolporados (Brewbaker, 1990). Dana & Datta (1961) observaram a emissão de grande quantidade de grãos de pólen binucleados viáveis em *S. aculeata* e *S. speciosa*.

2.3.2 Fenologia

O efeito da temperatura e do fotoperíodo sobre o florescimento das espécies *S. sesban* e *S. cannabina* foi avaliado por Sedi & Humphreys (1992), constatando que os acessos de *S. cannabina* se comportam como plantas de dias curtos, enquanto que *S. sesban* é insensível ao comprimento do dia. O florescimento em *S. sesban* ocorreu aos 110, 117 e 117 dias após a emergência em comprimentos de dia de 11, 12 e 13 horas, respectivamente, em condições de baixas temperaturas (23/18°C); em temperaturas médias (28/23°C) o florescimento ocorreu de modo esparso e desigual, e em temperaturas mais elevadas (33/28°C) as plantas ainda estavam no estágio vegetativo aos 176 dias após a emergência, por ocasião do término do experimento.

Outra espécie sensível ao fotoperíodo é *S. rostrata*, que em períodos de dias curtos e baixas temperaturas se desenvolve pouco, apresenta nodulação esparsa e floresce muito precocemente (Tomekpe et al., 1991). Na tentativa de se obter uma planta de dias neutros, Joshua & Ramani (1993) obtiveram um mutante de *S. rostrata*, após tratamento com raios gama, de fase vegetativa mais longa, florescendo somente 10 meses após a semeadura, enquanto que a testemunha e as demais plantas M₂ floresceram de 35 a 40 dias após a semeadura. Ao ser submetido a condições de dias curtos, no entanto, o mutante floresceu aos 60 dias após a semeadura e a testemunha

aos 15 dias, mostrando que o fotoperíodo de dias curtos é crítico para a indução do florescimento tanto da planta original como do mutante.

Heering (1994) observou uma amplitude de 102 a 153 dias após a germinação para o florescimento (50% das plantas) dos acessos de *S. sesban*, de 96 a 146 dias para os acessos de *S. goetzei*, e de 131 a 176 dias para a espécie *S. keniensis*, nas condições do Rift Valley, na Etiópia. O número de sementes maduras por vagem observado variou consideravelmente em *S. sesban* (de 1 a 48), *S. goetzei* (9 a 50) e *S. keniensis* (7 a 35).

Grandes diferenças entre acessos dentro de espécies com relação à produção de sementes foi também observado por Heering (1994). Segundo o autor, outras avaliações realizadas no International Livestock Centre for Africa (ILCA), na Etiópia, também mostraram considerável variação para caracteres agrônômicos e nutricionais, o que indica a existência de grande potencial para a seleção. A presença de características tais como florescimento precoce, boa produção de sementes e capacidade de produzir sementes após a autofecundação dessas espécies seria bastante desejável para programas de melhoramento.

2.3.3 Modo de reprodução

As sesbanias perenes são consideradas plantas alógamas (Brewbaker, 1990). Entretanto, segundo o autor, existem poucos dados utilizando polinização manual para confirmar a presença de autocompatibilidade ou de auto-incompatibilidade no gênero. Arroyo (1981) cita a espécie anual *S. cannabina* como sendo uma espécie autógama.

Estudos envolvendo a polinização manual das espécies *S. sesban*, *S. goetzei* e *S. keniensis* mostraram que essas três espécies se reproduzem tanto por polinização cruzada como por autopolinização (Heering, 1994). O autor observou que a porcentagem de sementes totalmente desenvolvidas foi maior em vagens formadas após a polinização cruzada que após a autopolinização, concluindo que a polinização cruzada é, provavelmente, o método de reprodução mais comum em condições naturais para essas espécies, embora a autopolinização possa ocorrer de forma significativa em árvores isoladas.

Owuor & Owino (1993) observaram quatro estágios distintos de desenvolvimento para as flores de *S. sesban*: 1) estágio de botão, 2) cálice e corola de tamanhos iguais, 3) comprimento da corola três vezes maior que o cálice, 4) flor aberta, e identificaram o estágio 2 como o mais adequado para a emasculação e o estágio 3 para a coleta de pólen, cujos procedimentos apresentam maior sucesso quando realizados no período da manhã.

Heering (1994) observou que as flores das espécies *Sesbania sesban*, *S. goetzei* e *S. keniensis* abrem principalmente no período da tarde, e que as anteras liberam os grãos de pólen um dia antes da flor se abrir. Neste estágio, o estigma está brilhante e aparentemente receptivo. O exame desses botões florais sob microscopia fluorescente mostrou, em alguns casos, que o pólen já havia germinado no estigma e penetrado no estilete antes que a flor se abrisse para a polinização, indicando a ocorrência de cleistogamia. Owuor & Owino (1993), por outro lado, examinando a superfície do estigma de *S. sesban* no estágio 2 acima descrito, observaram um estigma úmido, provavelmente receptivo, indicando a presença de protoginia, onde a parte feminina da flor se torna funcional antes da parte masculina. Por este motivo, a polinização, segundo os autores, deve ser realizada imediatamente após a emasculação.

Embora os trabalhos mais recentes sobre biologia reprodutiva em *Sesbania* spp. (Heering, 1994; Owuor & Owino, 1993) tenham fornecido maiores subsídios com relação ao modo de reprodução nessas espécies, novos estudos se fazem necessários para se determinar, por exemplo, a taxa de cruzamento em condições naturais. Marcadores genéticos tanto morfológicos como bioquímicos, segundo Heering (1994), deveriam ser utilizados para se determinar o nível exato dessas taxas de cruzamento.

2.4 Características climáticas e edáficas

A distribuição ecológica das sesbanias é bastante diversificada. As espécies perenes ocorrem em regiões tropicais e subtropicais livres de geadas, mas as anuais podem habitar regiões de zonas temperadas na fronteira de regiões

subtropicais (Evans, 1990).

As sesbanias são bem adaptadas a flutuações estacionais de umidade, sendo de modo geral provenientes de regiões com períodos alternantes de seca e chuva, apresentando tolerância tanto à seca como à inundações. Em áreas alagadas, emitem raízes de seus caules, protegendo ramos, raízes e os nódulos das raízes desenvolvendo um parênquima aerífico em volta deles (Brewbaker et al., 1990).

Quanto à precipitação, Brewbaker et al. (1990) citam as espécies *S. sesban* como adaptada à amplitude de 500 a 2000 mm e *S. grandiflora* a condições de maior precipitação, variando de 2000 a 4000 mm, embora se desenvolva bem em áreas com apenas 800 mm de precipitação anual. Esta espécie, bem como as outras do subgênero *Agati*, é bem adaptada a ambientes quentes e úmidos, não apresentando tolerância ao frio, principalmente em áreas com temperaturas mínimas abaixo de 10°C (Wood & Larkens, 1987).

Já *S. sesban* mostra alguma tolerância ao frio, crescendo bem em área de até 2300 m de altitude (Brewbaker et al., 1990). Shelton et al. (1991) observaram um crescimento notável de *S. sesban* em temperaturas mais baixas (20/17°C dia/noite) em casa-de-vegetação, quando comparada às demais espécies avaliadas. As espécies do subgênero *Daubentonia* são encontradas em zonas subtropicais (Brewbaker et al., 1990).

Quanto às exigências edáficas, as espécies de *Sesbania* são conhecidas pela sua tolerância a solos salinos e alcalinos e a solos inundados (Bray, 1994). As sesbanias podem ser cultivadas em solos alcalinos com níveis de pH até 10. Ghai et al. (1985) observaram bom crescimento e grande nodulação em todas as espécies perenes avaliadas (8 acessos de *S. sesban*, 3 de *S. grandiflora*, um de *S. glabra* e um acesso não identificado) em solo alcalino com pH 9,2. Hansen & Munns (1985) testaram diversas espécies anuais e perenes quanto à tolerância ao cloreto de sódio (NaCl), em níveis de 0 a 200 mM, observando que com exceção da espécie *S. pachycarpa*, a maioria das espécies mostraram boa tolerância ao NaCl, especialmente até os níveis de 100 mM.

Quanto à adaptação a solos ácidos, Mugwira & Haque (1993) observaram grande variação entre acessos de *S. sesban* e *S. goetzei* para tolerância a acidez e baixos níveis de fósforo (P), com reduções na produção de brotos de 18 a 69% com 3 ppm e 33 a 84% com 6 ppm de alumínio (Al). Com o aumento do nível de P

para 200 μ M, os efeitos deletérios do Al diminuíram, de modo que apenas um acesso teve redução no crescimento maior que 50% a 3 ppm de Al. Num estudo comparativo de guandu (*Cajanus cajan*) com três espécies de *Sesbania* (*S. aculeata*, *S. rostrata* e *S. speciosa*), Poolpipatana & Hue (1994) verificaram que o guandu tolera concentrações de Al aproximadamente três vezes maiores que as três sesbanias, observando concentrações críticas de Al, acima das quais ocorrem reduções significativas na produção das plantas, de 80 mg/kg para o guandu e 30 mg/kg para as sesbanias.

2.5 Potencial agronômico e forrageiro

Das espécies anuais do gênero, as mais importantes têm sido utilizadas como adubo verde, precedendo culturas de cereais, principalmente arroz, e também ocasionalmente como culturas intercalares ou culturas de bordadura, sendo bastante valorizadas por sua tolerância a solos salinos, alagados ou parcialmente inundados (Evans & Rotar, 1987). A espécie mais amplamente utilizada é *S. bispinosa* (Jacq.) W.F. Wight (subgên. *Sesbania*; sin. *S. aculeata* (Willd.) Pers.), extensivamente cultivada na Índia e na Ásia. A espécie africana *S. rostrata* é conhecida pela sua atípica nodulação caular. Esta espécie cresce rapidamente e pode fixar grandes quantidades de nitrogênio em três ou quatro meses (Brewbaker et al., 1990).

Quanto às espécies perenes, as mais conhecidas e utilizadas na agricultura são *S. sesban* e *S. grandiflora*. Até recentemente, o uso dessas espécies era restrito ao sul e sudeste da Ásia, como na Índia, onde eram utilizadas principalmente como adubo verde e forragem. No Norte da Tailândia, as folhas de *S. grandiflora* são consideradas excelente suplemento ao gado de leite cuja alimentação predominante era palha de gramíneas. No Vietnã esta espécie é utilizada como forragem suplementar e como fonte de matéria orgânica em hortas e jardins. *S. sesban* tem se mostrado muito promissora na Etiópia em altitudes de 2000 m, sendo utilizada também no Quênia, no Iraque e no oeste da África tropical como forrageira (Gutteridge, 1994). Patil & Gill (1986) relatam o uso de *S. sesban* em Jhansi na Índia como forrageira mas plantada intercalada com culturas de milho, teosinte e sorgo, além de ser utilizada como adubo verde, cerca viva, quebra vento e lenha.

Comparando plantações de um ano de alta densidade de *S. sesban* e *Leucaena leucocephala* quanto à taxa de crescimento e produção de biomassa numa zona semi-árida do noroeste da Índia, Bisht & Toky (1989) verificaram que *S. sesban* superou a leucena em todos os parâmetros avaliados. E, na Tailândia, comparando diversas espécies arbustivas e arbóreas seis meses após o plantio, Gutteridge & Akkasaeng (1985) observaram maior altura da planta e produção de matéria seca (MS) comestível e não-comestível para *S. sesban* e comentaram sobre a importância das altas produções de hastes lenhosas não-comestíveis dessas espécies como fonte de madeira para lenha, normalmente escassa nos vilarejos daquela região.

Maasdorp & Gutteridge (1986), examinando os efeitos da adubação nitrogenada e fosfatada e o controle de plantas daninhas sobre a emergência e crescimento inicial de cinco leguminosas arbustivas (*S. sesban*, *S. formosa*, *L. leucocephala*, *Acacia angustissima* e *Calliandra calothyrsus*), observaram rápido crescimento inicial bem como maior produção de MS da parte aérea após 11 semanas em todos os tratamentos (adubado - não-adubado; com ou sem controle) para as espécies de *Sesbania*, compensando assim as menores taxas de emergência observadas para *S. sesban*. Em Nova Odessa, SP, as avaliações iniciais nos primeiros 12 meses de observação de diversas espécies de leguminosas arbustivas dos gêneros *Leucaena*, *Sesbania*, *Cajanus*, *Desmanthus*, *Desmodium*, *Codaryocalyx*, entre outros, apontaram os acessos de *S. sesban* como mais produtivos e de crescimento mais rápido (Veasey et al., 1995).

Kamara & Maghembe (1994) avaliaram 16 espécies de leguminosas arbustivas e arbóreas para uso em sistemas agroflorestais no Zambia, observando que embora o ciclo de vida das sesbanias seja mais curto (um ano para *S. macrantha* e dois anos e meio para *S. sesban*), elas apresentaram crescimento e produção de biomassa notáveis, tomando-as candidatas ideais para uso como adubo verde, adubação orgânica e como forrageiras em bancos de proteína.

Na Austrália, o novo cultivar Mount Cotton de *S. sesban* apresentou a mais alta produção de forragem em ensaios conduzidos em cinco locais próximo ao litoral em Queensland, mostrando-se superior em termos de persistência e produção de matéria seca a outros acessos de *S. sesban* e à *L. leucocephala* cv. Cunningham (Gutteridge et al., 1995). Diferenças significativas entre acessos de *S. sesban* var. *nubica* foram observadas por Karachi et al. (1994) para altura, diâmetro do colo basal,

ramificação primária, secundária e terciária, bem como para produção de forragem e mortalidade de plantas, indicando a existência de variabilidade genética no material avaliado.

Heering et al. (1996a; 1996b) classificaram uma coleção de 108 acessos de *S. sesban*, baseado em dados morfológicos e agronômicos, respectivamente. Dois grandes grupos foram obtidos na análise de agrupamento separando as variedades *sesban* e *bicolor* da variedade *nubica* com os dados morfológicos, mas principalmente com base no tamanho e número de folíolos, tamanho e cor da semente, e hábito de crescimento (Heering et al., 1996a). Os autores observaram que a variedade *bicolor* é muito similar à variedade *sesban*, diferindo apenas na coloração da flor. Os dados agronômicos mostraram grande variação na produção de matéria seca por planta em *S. sesban* e correlações altas e significativas entre produção de matéria seca seis meses após a semeadura e altura da planta e diâmetro do caule (Heering et al., 1996b).

A produtividade das espécies perenes de *Sesbania*, no entanto, é bastante influenciada pelo manejo de cortes empregado. *S. grandiflora* não tolera cortes freqüentes a baixas alturas de corte ou desfolhamento severo (Ella et al., 1989). Os ramos laterais desta espécie podem ser cortados, mas os pontos de crescimento primários devem ser protegidos, pelo menos durante a fase de desenvolvimento inicial. Já *S. sesban* sobrevive melhor que *S. grandiflora*, mesmo sob cortes freqüentes, podendo chegar até a cinco cortes por ano (Gutteridge & Topark-Ngarm, 1990).

A altura de corte também pode influenciar na produção final. Alturas de corte de 75 a 100 cm são as mais adequadas, sendo que cortes abaixo de 50 cm ou muito freqüentes podem aumentar a mortalidade ou reduzir a longevidade das plantas (Gutteridge, 1994). Heering (1995) observou que, de modo geral, a produção média de matéria seca das folhas foi maior nas plantas cortadas a 150 cm (maior altura avaliada) que aquelas cortadas a 75 cm. A maior média de produção foi obtida com plantas cortadas a 150 cm de altura e com intervalo de três meses entre os cortes.

2.6 Caracterização bioquímica

A variabilidade genética dos diferentes acessos e espécies pode ser caracterizada através de dados morfológicos e agronômicos de plantas individualizadas em campo ou casa-de-vegetação. Essas avaliações, no entanto, podem ser complementadas por um estudo mais direto da expressão genotípica através da eletroforese de isoenzimas (Simpson & Withers, 1986).

A análise de isoenzimas tem sido empregada para a identificação de cultivares e espécies e para estudos genéticos em diversos gêneros e espécies de leguminosas forrageiras, entre os quais *Aeschynomene* (Carulli & Fairbrothers, 1988), *Centrosema* (Penteado et al., 1997), *Desmodium* (Chow & Crowder, 1974), *Leucaena* (Harris et al., 1994; Chamberlain et al., 1996), *Stylosanthes* (Marcon, 1988; Lovato & Martins, 1997). Marcon (1988), concluiu que o polimorfismo isoenzimático observado é função da variação ambiental avaliando diversas populações de *Stylosanthes humilis* coletadas em diferentes condições ambientais do Estado de Pernambuco. Correlações entre tolerância salina e frequências alélicas em seis populações de *Stylosanthes humilis* foram estabelecidas por Lovato & Martins (1997), utilizando os sistemas isoenzimáticos esterase e peroxidase. Penteado et al. (1997) observaram alto polimorfismo isoenzimático e variabilidade genética entre e dentro de espécies e populações de *Centrosema*, avaliando 17 locos isoenzimáticos, obtendo padrões isoenzimáticos muito eficientes para a discriminação das espécies estudadas.

A análise de três sistemas isoenzimáticos entre e dentro de 24 populações de *Leucaena leucocephala* detectou altos níveis de variabilidade intraespecífica (Harris et al., 1994), possibilitando além disso a diferenciação por padrões multi-enzimáticos das duas subespécies, ssp. *leucocephala* e ssp. *glabrata*. A variação genética dentro e as relações entre quatro taxa que compreendem o complexo *L. shannonii* foram avaliadas por Chamberlain et al. (1996) com seis sistemas isoenzimáticos. Uma espécie não identificada pelos autores foi a mais proximamente relacionada à *L. salvadorensis*. A variação isoenzimática, no entanto, não confirmou uma relação próxima entre as duas subespécies de *L. shannonii*, ssp. *magnifica* e ssp. *shannonii*.

Poucos estudos foram realizados até a presente data com relação a padrões eletroforéticos para a identificação de espécies e acessos de *Sesbania*. Saraswati et al. (1993) avaliaram 17 espécies de *Sesbania* por padrões eletroforéticos utilizando proteína da semente e a técnica SDS-PAGE (dodecylsulfato de sódio - gel de poliacrilamida), obtendo padrões de proteína espécie-específicos para 15 espécies. Os autores discutem as relações entre as espécies baseadas nos padrões eletroforéticos observados.

Em estudos mais recentes, diferentes acessos das espécies *S. sesban* e *S. goetzei* foram avaliados por padrões obtidos através de cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) (Plumb et al., 1996; Heering et al., 1996c). Diferenças significativas ($P < 0,001$) foram obtidas entre 103 acessos de *S. sesban* para concentrações de fenóis solúveis e de proantocianidina insolúvel (Heering et al., 1996c). Os acessos pertencentes à var. *nubica* apresentaram padrões quantitativa e qualitativamente diferentes dos obtidos para as variedades *sesban* e *bicolor*. Este estudo mostrou também que os acessos podem ser agrupados de acordo com os seus padrões de cromatografia HPLC.

3 VARIABILIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE ESPÉCIES DE *Sesbania* Scop.

I. DESENVOLVIMENTO INICIAL E CARACTERIZAÇÃO DAS PLÂNTULAS.

3.1 Resumo

São apresentadas as caracterizações de 17 acessos de *Sesbania*, representados por *S. exasperata*, *S. grandiflora*, *S. sesban*, *S. tetraptera* e *S. virgata*, no estágio de plântula, avaliando também o desenvolvimento inicial nos primeiros dois meses após a semeadura. O ensaio foi instalado em casa-de-vegetação, em blocos casualizados com 4 repetições e 5 plantas por parcela, avaliando-se os caracteres: altura da planta (APL); comprimento do hipocótilo (CH) e do epicótilo (CEP); comprimento (CE1) e largura (LE1) do primeiro eófilo; e número de pares de folíolos do segundo metáfilo (NPF). Todos os caracteres foram avaliados aos 17 dias da semeadura, com exceção da APL que também foi avaliada aos 32, 47 e 62 dias. Foram realizadas análises de variância univariada, estimando-se os parâmetros genéticos: coeficiente de determinação genotípica (b) e de variação genética (CVg), e de agrupamento, usando distância Euclideana e método UPGMA. Observou-se o comportamento diferencial das espécies com relação à APL desde a fase de plântula até dois meses após a semeadura. Aos 17 dias, *S. exasperata* apresentou maior APL, seguida de *S. virgata*. Aos 62 dias, *S. sesban* foi a que apresentou maior APL, evidenciando um rápido desenvolvimento inicial. O caráter CH apresentou variação inter mas não intraespecífica. Já os caracteres CEP, CE1, LE1 e NPF mostraram variação tanto inter como intraespecífica. A análise de agrupamento indicou a existência de sete grupos, caracterizando as espécies e mostrando a variação intraespecífica. *S. tetraptera* apresentou os maiores CH e NPF ($P < 0,05$), e menor LE1. *S. grandiflora* mostrou os menores CH, CEP e APL. O acesso nº 13 de *S. virgata* (NO 1289) apresentou os maiores CEP, CE1 e LE1 ($P < 0,05$), mostrando variação

intraespecífica, assim como o acesso nº 5 de *S. sesban* (NO 934), classificados em grupos distintos. Foi também observada a ocorrência, em baixas frequências, de dois eófilos unifoliolados e opostos para algumas espécies, bem como a ocorrência do primeiro eófilo bi- ou trifoliolado para o acesso NO 934 de *S. sesban*. Estas informações são básicas para a escolha de caracteres a serem utilizados na fase juvenil para a diferenciação e caracterização de germoplasma de *Sesbania*.

GENETIC VARIABILITY IN ACCESSIONS OF *Sesbania* Scop. SPECIES

I. EARLY GROWTH AND SEEDLING MORPHOLOGY

3.2 Summary

Characterization is presented of 17 accessions of *Sesbania*, represented by *S. exasperata*, *S. grandiflora*, *S. sesban*, *S. tetraptera* and *S. virgata* at the seedling stage is presented, evaluating also the early growth in the first two months after planting. The trial was conducted in the greenhouse in a randomized block design with 4 replications. The traits recorded were: plant height (PLH); length of hypocotyl (LH) and epicotyl (LEP); length (LE1) and width (WE1) of the first eophyll; and number of leaflet pairs of the second metaphyll (NLP). All traits were evaluated 17 days after planting, except for PLH which was also evaluated at 32, 47 and 62 days. Univariate analyses of variance were performed, estimating also the genetic parameters: coefficient of genotypic determination (b) and coefficient of genetic variation (CVg). A cluster analysis was also obtained, using the average Euclidean distance and the UPGMA method. A differential behavior was observed in relation to PH from the seedling phase until two months after planting. At 17 days after planting, *S. exasperata* presented the highest PLH, followed by *S. virgata*. At 62 days, it was *S. sesban* that reached the highest PLH. The LH trait displayed inter but not intraspecific variation. Characters LEP, LE1, WE1 and NLP showed both inter and intraspecific variation. The cluster analysis indicated the existence of seven groups, characterizing the species and revealing intraspecific variation as well. *S. tetraptera* presented the highest LH, NLP ($P < 0.05$) and the lowest WE1. *S. grandiflora* showed the lowest LH, LEP and PLH. Accession nº 13 of *S. virgata* (NO 1289) presented the highest LEP, LE1 and WE1

($P < 0,05$), showing intraspecific variability, as did accession nº 5 of *S. sesban* (NO 934), classified in separate groups. Also observed in this study was the occurrence in low frequencies of two unifoliate opposite eophylls for some species, as well as bi- or trifoliate first eophylls for accession NO 934 of *S. sesban*. This information is basic for the choice of traits to be utilized at the juvenile phase for the differentiation and characterization of *Sesbania* germplasm.

3.3 Introdução

O gênero *Sesbania* pertence à família Leguminosae, subfamília Papilionoideae e tribo Robinieae (Monteiro, 1984). Este gênero apresenta 60 espécies distribuídas nos trópicos e subtropicais, geralmente encontradas em zonas tropicais semi-áridas a subúmidas, com precipitação anual entre 500 e 2000 mm, sendo mais comuns em regiões com período seco e úmido alternados, do que em regiões com precipitação uniformemente distribuída. A altitude para as espécies de *Sesbania* varia desde o nível do mar até elevações de cerca de 2000m, compreendendo regiões relativamente frias para leguminosas tropicais (Evans, 1990).

A grande maioria das espécies de *Sesbania* são herbáceas anuais ou bianuais, porém algumas são arbustivas perenes de curta duração, e poucas espécies são perenes. A alta capacidade de fixação de nitrogênio dessas espécies permite um rápido crescimento mesmo em solos deficientes de nitrogênio e sua utilização como adubo verde, cobertura do solo, em sistemas agroflorestais e produção de madeira (Ndoye et al., 1990).

Observações de plântulas de *Sesbania*, associadas com taxonomia, têm sido realizadas por diversos autores (DeCandolle, 1825, citado por Monteiro, 1984; Gillett, 1963; Leitão Filho et al., 1975; Sousa & Sousa, 1981; Monteiro, 1984). As principais características observadas em plântulas do gênero *Sesbania* foram descritas por Monteiro (1984) como sendo: (1) germinação epígea com um hipocótilo longo e epicótilo curto; (2) cotilédones foliáceos, muito curto-peciolados e escapando da testa; (3) primeiro eófilo simples, lembrando os cotilédones; (4) segundo eófilo paripinado com menos folíolos que os metáfílos; (5) epicótilo mais longo que o internódio entre os primeiros metáfílos.

Comparações quanto ao crescimento inicial e nodulação de espécies de *Sesbania* e outras leguminosas arbustivas dos gêneros *Cajanus*, *Codariocalyx*, *Cratylia*, *Desmanthus*, *Desmodium* e *Leucaena* foram realizadas por Veasey et al. (1997), mostrando que *S. sesban* e *S. exasperata* apresentaram as maiores alturas da planta e peso seco da parte aérea ($P < 0,05$) aos 56 dias após a semeadura, revelando-se o rápido crescimento inicial dessas espécies.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o desenvolvimento inicial e a caracterização das plântulas de cinco espécies de *Sesbania*, representadas por 17 acessos, e estimar parâmetros genéticos associados a características morfológicas.

3.4 Material e métodos

Foram avaliados 17 acessos representando cinco espécies de *Sesbania*, sendo duas anuais (*S. exasperata* e *S. tetraptera*) e três perenes (*S. grandiflora*, *S. sesban*, *S. virgata*), cuja identificação e origem estão descritos na Tabela 1. As espécies avaliadas representam subgêneros diferentes que, originalmente, apresentam áreas de ocorrência distintas: subgên. *Sesbania* (*S. exasperata* e *S. sesban*), originário do Velho Mundo e mais tarde disperso no Novo Mundo; subgên. *Agati* (*S. grandiflora*), originário do Velho Mundo, como Austrália e Ásia; subgên. *Daubentonia* (*S. virgata*), originário do Novo Mundo; e subgên. *Pterosesbania* (*S. tetraptera*), originário da África (Monteiro, 1984).

O estudo foi conduzido no Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/Universidade de São Paulo, em Piracicaba, SP, no período de outubro a dezembro de 1994. As temperaturas máximas e mínimas durante o período foram 31,5 e 19,0°C, respectivamente. A duração máxima da insolação diária, em horas, foi 12,6; 13,2; e 13,5 para outubro, novembro e dezembro, respectivamente. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, em sacos de polietileno de 20 cm de altura e 18 cm de diâmetro, contendo solo com a seguinte composição química: 108,7 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ de fósforo, 0,50 meq/100 cm^3 de potássio, 15,0 meq/100 cm^3 de cálcio, 3,12 meq/100 cm^3 de magnésio, 4,47% de matéria orgânica e pH 5,4. Utilizou-se o delineamento de blocos ao acaso com quatro repetições e cinco plantas por parcela. Os dados foram obtidos de plântulas

individuais. Aos 17, 32, 47 e 62 dias após a semeadura (intervalo de 15 dias) foi avaliada a altura da planta (APL), e aos 17 dias o comprimento do hipocótilo (CH) e do epicótilo (CEP); comprimento (CE1) e largura (LE1) do primeiro eófilo (eófilo 1); e número de pares de folíolos (NPF) do segundo metáfilo (metáfilo 2).

Foram avaliados neste trabalho o número de pares de folíolos dos eófilos 1 e 2 e dos metáfilos 1 e 2, observando-se números crescentes de folíolos a cada estágio de desenvolvimento da folha, decidindo-se utilizar para a análise estatística o NPF do segundo metáfilo, por conter maior número de pares de folíolos com relação aos eófilos e metáfilos anteriores. As mensurações da altura da planta e comprimento e largura foram realizadas com régua milimetrada. O comprimento do eófilo 1 refere-se à distância longitudinal entre o ápice e a base, sendo que a largura do eófilo 1 foi considerada a medida da região de maior amplitude. Foi anotada também a taxa de ocorrência de dois eófilos unifoliolados e opostos, e de eófilos 1 bi- ou trifoliolados.

Foram realizadas as análises de variância univariada, estimando-se os parâmetros genéticos: coeficiente de determinação genotípica (b) e coeficiente de variação genética (CVg) (Vencovsky & Barriga, 1992), e de agrupamento utilizando a distância Euclideana média como medida de dissimilaridade e o método UPGMA (unweighted pair group method of arithmetic average) (Cruz & Regazzi, 1994). Para esta análise foi utilizada a média dos caracteres: CH, CEP, CE1, LE1, NPF e APL aos 62 dias após a semeadura.

3.5 Resultados e Discussão

As plântulas das espécies de *Sesbania* avaliadas apresentaram desenvolvimento do tipo faneroepígeo com cotilédones foliáceos e eófilos alternos, com o primeiro eófilo unifoliolado (Figura 1A), de acordo com a classificação de Duke & Polhill (1981), e com as observações realizadas por Monteiro (1984). Observou-se, no entanto, a ocorrência de plântulas com dois eófilos unifoliolados e opostos para as espécies *S. grandiflora* (Figura 1B), *S. exasperata*, e *S. sesban* (NO 1030), nas frequências de 2,1; 1,6 e 1,6%, respectivamente. Tal constatação corrobora as

Tabela 1. Lista das espécies/aceiros de *Sesbania*, e seus respectivos números de introdução (NO) no Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP, e origem do material. Experimento sobre "Desenvolvimento inicial e caracterização de plântulas de *Sesbania*". Piracicaba, 1994.

nº	NO	Espécies	Subgênero	Ciclo	Origem
1	1017	<i>Sesbania exasperata</i> H.B.K.	<i>Sesbania</i>	Anual	Campinas, SP
2	1545	"	"	"	Itumbiara, GO
3	2117	"	"	"	CNPMS ¹ - Sete Lagoas, MG
4	2559	<i>grandiflora</i> (L.) Pers.	<i>Agati</i>	Perene	Linhares, ES
5	934	<i>sesban</i> (L.) Merrill var. <i>sesban</i>	<i>Sesbania</i>	"	Cidade Universitária, São Paulo, SP
6	1030a	"	"	"	Campinas, SP
7	1030b	"	"	"	Campinas, SP
8	1375	"	"	"	Estrada Franca-Ituverava, SP
9	2419	"	"	"	Rongwa Research Centre, Tanzânia
10	2529	"	"	"	Inst. De Pesquisas IRI, Matão, SP
11	1660	<i>tetraptera</i> Hoechst ex Baker	<i>Pterossesbania</i>	Anual	Moçambique
12	1256	<i>virgata</i> (Cav.) Pers.	<i>Daubentonina</i>	Perene	Rodovia Pres. Dutra - Km 110, RJ
13	1289	"	"	"	Miranda, MS
14	1634	"	"	"	Bicas, MG
15	2553	"	"	"	Piracicaba, SP
16	2554	"	"	"	Niterói, RJ
17	2557	"	"	"	Americana, SP

¹ CNPMS – Centro Nacional de Pesquisa de Mato Grosso do Sul.

observações de DeCandolle (1825), citado por Monteiro (1984), mencionando *S. aculeata* e *Sesbania* sp. como possuindo eófilos opostos. No presente trabalho, as plântulas contendo dois eófilos unifoliolados e opostos ocorreram com baixas frequências. Conclui-se, portanto, que em geral as plântulas de *Sesbania* spp. apresentam eófilos alternos com o primeiro eófilo unifoliolado, concordando com as observações de Leitão Filho et al. (1975), Sousa & Sousa (1981) e Monteiro (1984), sendo possível a ocorrência de variantes apresentando dois eófilos unifoliolados e opostos. Este caráter poderia ser explorado visando a sua utilização como marcador fenotípico.

Observou-se variação intraespecífica para número de folíolos do primeiro eófilo visto que foram encontradas, em frequências relativamente elevadas, plântulas com o primeiro eófilo bifoliolado (20%) ou trifoliolado (12%) para um dos acessos de *S. sesban* (NO 934) (Figura 1C). Os demais acessos de *S. sesban* avaliados não apresentaram esta característica. Constatação semelhante foi observada na multiplicação das plântulas a serem levadas ao campo em trabalho posterior a este, visando a obtenção de dados morfológicos e agrônômicos de plantas adultas de *Sesbania* spp. (item 4). A ocorrência de eófilos 1 trifoliolados foi descrita por DeCandolle (1825), citado por Monteiro (1984) para *S. punicea*. No presente trabalho, no entanto, *S. virgata*, pertencente ao mesmo subgênero de *S. punicea*, subgên. *Daubentonia*, apresentou invariavelmente eófilos 1 unifoliolados. Estudos preliminares incluindo a observação de plântulas de diferentes acessos de *S. punicea* também confirmam a ocorrência de eófilos 1 unifoliolados (Veasey et al., dados não publicados).

Observou-se comportamento diferencial das espécies com relação à altura da planta (APL), desde a fase de plântula até dois meses (62 dias) após a semeadura (Figura 2). Aos 17 dias, *S. exasperata* apresentou a maior APL, seguida de *S. virgata*. Aos 62 dias da semeadura, no entanto, os acessos de *S. sesban* apresentaram, em média, maior APL (Tabela 2), o que pode estar refletindo no maior vigor de crescimento, importante para o estabelecimento inicial das plantas. Esta espécie possui grande potencial como forrageira (Gutteridge, 1994), apresentando rápido crescimento inicial quando comparada a outras espécies de leguminosas arbustivas tropicais (Maasdorp & Gutteridge, 1986; Bisht & Toky, 1989; Veasey et al., 1995). *S. exasperata*, descrita como perene por Leitão Filho et al. (1975) e

Figura 1. A) Plântula de *S. exasperata* com o eófilo 1 unifoliolado; B) plântula de *S. grandiflora* com dois eófilos unifoliolados opostos; C) plântula de *S. sesban* (NO 934) com o eófilo 1 trifoliolado. Piracicaba, 1994.

Tabela 2. Médias, coeficientes de variação (CV), coeficientes de determinação genotípica (b) e coeficientes de variação genética (CVg) estimados para os caracteres: comprimento do hipocótilo (CH) e do epicótilo (CEP), comprimento e largura do eófilo 1 (CE1 e LE1), número de pares de folíolos do metáfilo 2 (NPF), altura da planta aos 17 (APL1) e 62 (APL4) dias da semeadura para 17 acessos de *Sesbania*. Piracicaba, 1994.

Aces- sos ¹	CH (cm)	CEP (cm)	CE1 (cm)	LE1 (cm)	NPF (nº)	APL1 (cm)	APL4 (cm)
1	3,46 ^b	3,47 ^c	3,43 ^{de}	1,55 ^f	6,80 ^{cd}	11,32 ^{ab}	86,47 ^{def}
2	3,42 ^b	2,89 ^{de}	3,00 ^{fg}	1,40 ^{efg}	6,80 ^{cd}	11,13 ^{bc}	80,22 ^{efgh}
3	3,67 ^b	4,09 ^b	3,27 ^{efg}	1,60 ^e	6,25 ^{defg}	12,81 ^a	77,70 ^{fghi}
4	1,94 ^d	1,26 ^h	3,79 ^{bcd}	2,21 ^d	7,70 ^b	3,77 ^g	68,72 ⁱ
5	2,03 ^{cd}	2,23 ^{fg}	2,93 ^g	1,26 ^g	7,10 ^{bc}	5,32 ^g	85,22 ^{defg}
6	2,17 ^{cd}	2,36 ^{fg}	3,53 ^{de}	1,35 ^{fg}	5,40 ^h	8,66 ^{def}	100,67 ^{abc}
7	2,10 ^{cd}	2,05 ^g	3,40 ^{def}	1,40 ^{efg}	6,00 ^{efgh}	8,13 ^{ef}	104,00 ^{ab}
8	2,16 ^{cd}	2,13 ^g	3,41 ^{def}	1,32 ^{fg}	5,65 ^{gh}	7,25 ^f	94,25 ^{bcd}
9	2,59 ^c	2,73 ^{ef}	3,43 ^{de}	1,42 ^{efg}	5,90 ^{fgh}	9,29 ^{de}	108,95 ^a
10	2,23 ^{cd}	2,30 ^{fg}	3,56 ^{cde}	1,52 ^{ef}	5,60 ^h	8,81 ^{def}	103,75 ^{ab}
11	4,84 ^a	1,49 ^h	3,63 ^{bcd}	1,23 ^g	9,60 ^a	7,49 ^f	74,07 ^{hi}
12	3,20 ^b	3,66 ^{bc}	3,94 ^{bc}	3,36 ^b	6,90 ^{cd}	9,71 ^{bcde}	80,12 ^{efgh}
13	3,46 ^b	4,62 ^a	4,68 ^a	3,64 ^a	6,50 ^{cdef}	11,13 ^{bc}	90,32 ^{cde}
14	3,20 ^b	3,34 ^{cd}	3,48 ^{de}	2,88 ^c	6,70 ^{cd}	8,71 ^{def}	75,32 ^{ghi}
15	3,42 ^b	4,02 ^b	4,01 ^b	3,32 ^b	5,70 ^{gh}	10,27 ^{bcd}	78,47 ^{fghi}
16	3,27 ^b	3,58 ^{bc}	3,72 ^{bcd}	3,28 ^b	6,80 ^{cd}	9,46 ^{cde}	80,00 ^{efgh}
17	3,18 ^b	3,39 ^{cd}	3,63 ^{bcd}	3,18 ^b	6,55 ^{cde}	8,92 ^{def}	74,87 ^{ghi}
Média	2,96	2,91	3,58	2,11	2,65	8,95	86,07
CV(%)	17,80	17,06	10,94	10,37	4,36	17,49	11,26
b	0,6786	0,7693	0,4678	0,9457	0,6367	0,6393	0,5834
CVg(%)	26,05	32,26	10,58	43,56	6,71	24,08	13,71

¹ Acessos descritos na Tabela 1.

Figura 2. Altura média da planta aos 17, 32, 47 e 62 dias após a semeadura, para *S. exasperata* (1-3), *S. grandiflora* (4), *S. sesban* (5-10), *S. tetraptera* (11) e *S. virgata* (12-17). Piracicaba, 1994.

considerada como anual por outros autores (Evans, 1990), apresentou maior APL aos 17 dias da semeadura, além de apresentar a segunda maior APL em todas as demais avaliações, revelando, portanto, bom desenvolvimento inicial. Veasey et al. (1997) também observaram maior altura da planta e maior produção de matéria seca da parte aérea aos 56 dias após a semeadura para as espécies *S. sesban* e *S. exasperata*, quando comparadas com outras espécies de *Sesbania*, *Cajanus*, *Codariocalyx*, *Cratylia*, *Desmanthus*, *Desmodium* e *Leucaena*.

S. grandiflora apresentou a menor APL em todas as avaliações. Em ensaio realizado ao nível de campo, *S. grandiflora* apresentou estabelecimento inicial bastante lento e menor altura no florescimento quando comparada a outras espécies de *Sesbania* (item 4). É interessante mencionar que *S. grandiflora* é tetraplóide ($2n=24$), enquanto as demais avaliadas neste estudo são diplóides ($2n=12$) (Monteiro, 1984; Bairiganjan & Patnaik, 1989; Forni-Martins et al., 1994). Além disso, é uma das espécies do gênero de maior perenidade, podendo apresentar até 20 anos de duração, ao contrário de *S. sesban*, do subgênero *Sesbania*, com duração de no máximo 5 a 10 anos (Evans, 1990).

Foi também observada variação intraespecífica para o caráter APL (Tabela 2; Figura 2). O acesso nº 5 de *S. sesban* apresentou a menor APL ($P < 0,05$) em todas as avaliações com relação aos demais acessos desta espécie. Já o acesso nº 13 de *S. virgata* apresentou sempre a maior APL em todas as avaliações com relação aos acessos da mesma espécie.

O caráter comprimento do hipocótilo (CH) apresentou variação interespecífica, diferenciando bem as espécies, mas não intraespecífica, contrastando com o comprimento do epicótilo (CEP), que apresentou variação inter e intraespecífica (Tabela 2; Figura 3). Os valores estimados para o coeficiente de determinação genotípica (b) foram 0,6786 e 0,7693 para CH e CEP, respectivamente, indicando possibilidade de seleção para estes caracteres. *S. tetraptera* apresentou o maior CH (4,84cm), e um dos menores CEP (1,49cm), à semelhança de *S. grandiflora* quanto ao CEP (1,26cm). *S. grandiflora* apresentou o menor CH (1,94cm).

A descrição geral das plântulas do gênero *Sesbania* (Monteiro, 1984) como tendo um hipocótilo longo e um epicótilo curto é adequada para *S. tetraptera* e *S. grandiflora*, principalmente para *S. tetraptera*, como mencionado acima. No entanto, estas características não foram observadas para *S. exasperata* (com exceção do acesso nº 2), *S. sesban* e *S. virgata*, onde observou-se epicótilos mais longos que o hipocótilo ou da mesma magnitude (Figura 3).

Os caracteres CE1, LE1 e NPF também apresentaram variação inter e intraespecífica, com valores de 0,4678; 0,9457 e 0,6367 para o b , e 10,58; 43,56 e 6,71% para o CVg, respectivamente (Tabela 2; Figuras 4 e 5). A maior variação interespecífica foi observada para a LE1, refletida nos altos valores tanto de b (0,9457) como de CVg (43,56%), indicando possibilidade de seleção e existência de variabilidade genética para este caráter. *S. virgata* apresentou a maior LE1, seguida de *S. grandiflora*.

A variação intraespecífica em *S. virgata* pode ser observada na Tabela 2 e Figura 4, onde o acesso nº 13 (NO 1289) apresentou os maiores valores para CE1 e LE1 ($P < 0,05$), bem como para CEP (Figura 3). Em *S. sesban*, o acesso nº 5 (NO 934) que apresentou eófilos 1 bi- ou trifoliolados, apresentou um CE1 menor ($P < 0,05$) que os acessos da mesma espécie. Por outro lado, este acesso apresentou um número de pares de folíolos do metáfilo 2 (NPF) superior aos demais acessos de

Figura 3. Comprimento médio do hipocótilo (CH) e do epicótilo (CEP) para *Sesbania exasperata* (1-3), *S. grandiflora* (4), *S. sesban* (5-10), *S. tetraptera* (11) e *S. virgata* (12-17). Piracicaba, 1994.

Figura 4. Comprimento médio (CE1) e largura média (LE1) do eófilo 1 para *Sesbania exasperata* (1-3), *S. grandiflora* (4), *S. sesban* (5-10), *S. tetraptera* (11) e *S. virgata* (12-17). Piracicaba, 1994.

Figura 5. Número de pares de folíolos do metáfilo 2 para *Sesbania exasperata* (1-3), *S. grandiflora* (4), *S. sesban* (5-10), *S. tetraptera* (11) e *S. virgata* (12-17). Piracicaba, 1994.

S. sesban (7,09 vs 5,69, em média) (Figura 5). *S. tetraptera* foi a que apresentou o maior NPF (9,59), seguida de *S. grandiflora* (7,66).

A análise de agrupamento classificou os acessos em 7 grupos, evidenciando tanto variação inter como intraespecífica, caracterizando as espécies (Figura 6). Os grupos formados foram os seguintes: I - *S. tetraptera* (11); II - *S. grandiflora* (4); III - *S. sesban* (6-10); IV - *S. sesban* (5); V - *S. virgata* (13); VI - *S. virgata* (12, 14-17); VII - *S. exasperata* (1-3). *S. tetraptera* (grupo I) foi classificada num grupo isolado por apresentar os maiores CH, NPF do metáfilo 2 ($P < 0,05$), e menor LE1. *S. grandiflora* (grupo II) apresentou os menores CH, CEP e APL nas quatro avaliações. O acesso nº 5 de *S. sesban* (NO 934) (grupo IV) foi classificado num grupo separado dos demais desta espécie (grupo III), por apresentar as características de menor APL e CE1, e maior NPF. O acesso nº 13 de *S. virgata* (NO 1289) também foi classificado num grupo isolado (grupo V) por apresentar maior APL em todas as avaliações e maiores CEP, CE1 e LE1 ($P < 0,05$), conforme já discutido, evidenciando a variação dentro de *S. virgata*. Os três acessos de *S. exasperata* foram classificados juntos no grupo VII.

Este trabalho caracterizou, portanto, as plântulas e o desenvolvimento inicial de cinco espécies de *Sesbania* (*S. exasperata*, *S. grandiflora*, *S. sesban*, *S. tetraptera* e *S. virgata*), mostrando além disso a presença de variabilidade genética tanto inter como intraespecífica para os caracteres avaliados.

Figura 6. Dendrograma obtido pela análise de agrupamento, utilizando a distância Euclidiana e o método UPGMA. Os acessos/espécies foram classificados nos seguintes grupos: I - *S. tetraptera* (11); II - *S. grandiflora* (4); III - *S. sesban* (6-10); IV - *S. sesban* (NO 934) (5); V - *S. virgata* (13); VI - *S. virgata* (12, 14-17); VII - *S. exasperata* (1-3). Piracicaba, 1994.

4 VARIABILIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE ESPÉCIES DE *Sesbania* SCOP. II. AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E AGRONÔMICA E ESTIMATIVA DE PARÂMETROS GENÉTICOS.

4.1 Resumo

Sete espécies de *Sesbania*: *S. emerus*, *S. exasperata*, *S. rostrata*, *S. tetraptera* (anuais), *S. grandiflora*, *S. sesban* e *S. virgata* (perenes), foram avaliadas neste trabalho, num total de 22 acessos, com o objetivo de caracterizar a variabilidade genética tanto inter como intraespecífica, estimar parâmetros genéticos para os caracteres em estudo e avaliar o potencial forrageiro dos acessos. Foi conduzido um experimento no Instituto de Zootecnia, em Nova Odessa, SP, em blocos ao acaso com 22 tratamentos e quatro repetições. Foram avaliados 17 caracteres morfológicos, incluindo dois de fenologia, e 17 caracteres agronômicos. Foram estimados os parâmetros coeficiente de determinação genotípica intraespecífica (b_i) e coeficiente de variação genética intraespecífica (CVg_i) para as espécies representadas por mais de um acesso. Diferenças altamente significativas foram observadas tanto entre como dentro de espécies para a maioria dos caracteres avaliados, mostrando a grande variabilidade genética do material em estudo. *S. exasperata* apresentou variação intraespecífica para o maior número de caracteres morfológicos, o mesmo sendo observado para *S. sesban* para caracteres agronômicos. Os dois acessos de *S. emerus* avaliados neste estudo mostraram-se bastante contrastantes para diversos caracteres, apresentando grande variação intraespecífica. Valores elevados de b_i , acima de 0,80, foram obtidos para a maioria dos caracteres, indicando possibilidade de seleção de genótipos superiores. Já os valores de CVg_i , que indicam a magnitude da variabilidade genética existente com relação à média do caráter, variaram de acordo

com a espécie e o caráter avaliado. Com relação à fenologia, *S. emerus* foi a espécie mais precoce e *S. virgata* a mais tardia. Observou-se diferenças entre espécies anuais e perenes, com as anuais apresentando maior produção de biomassa no primeiro corte e as perenes a partir do segundo corte, atingindo o pico de produção no terceiro corte. Maior produção de sementes foi observada para espécies anuais, com destaque para *S. emerus* (NO 2563), *S. exasperata* (exceto NO 2560), *S. rostrata* e *S. tetraptera*. O acesso NO 934 de *S. sesban* se destacou quanto à produção de biomassa e vigor de rebrota, sendo indicado como promissor para uso como leguminosa forrageira.

GENETIC VARIABILITY IN ACCESSIONS OF *Sesbania* Scop. SPECIES

II. MORPHOLOGICAL AND AGRONOMIC EVALUATION AND CHARACTERIZATION AND ESTIMATES OF GENETIC PARAMETERS.

4.2 Summary

Seven *Sesbania* species: *S. emerus*, *S. rostrata*, *S. tetraptera*, *S. exasperata* (annuals), *S. grandiflora*, *S. sesban* and *S. virgata* (perennials), in a total of 22 accessions, were investigated, with the aim of characterizing both inter and intraspecific genetic variability, estimating genetic parameters for the characters evaluated and appraising the forage potential of the accessions. An experiment was carried out at the Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP, Brazil, in a randomized complete block design with 22 treatments and four replications. Seventeen morphological characters, including two phenological, and 17 agronomic characters were evaluated. Genetic parameters coefficient of intraspecific genotypic determination (b_i) and the coefficient of intraspecific genetic variation (CVg_i) were obtained for species represented by more than one accession. Highly significant differences were observed among as well as within species for most characters, showing considerable genetic variability for the species studied. *S. exasperata* showed intraspecific genetic variability for the highest number of morphological characters, the same being observed for *S. sesban* for the agronomic characters. Most of the characters showed high b_i values, above 0.80, indicating the possibility of selection of superior genotypes. The

CVg_i values, on the other hand, which indicate the magnitude of the existing genetic variability relative to the mean of the character, varied according to the species and the character evaluated. As to phenology, *S. emerus* was the earliest to flower and *S. virgata* the latest. Differences between annual and perennial species were observed, with higher biomass yields presented by the annuals at the first cut and by the perennials after the second cut, reaching the highest yield at the third cut. Higher seed production was observed for the annual species, mainly *S. emerus* (NO 2563), *S. exasperata* (except NO 2560), *S. rostrata* and *S. tetraptera*. Accession NO 934 of *S. sesban* presented higher biomass yields and regrowth vigor, showing promise as a forage legume plant.

4.3 Introdução

O gênero *Sesbania* Scop. é composto por 60 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais, pertencentes à subfamília Papilionoideae da família Leguminosae, e à tribo Robinieae (Evans, 1990). Apresenta espécies anuais ou perenes, de hábito herbáceo, arbustivo ou arbóreo, distribuídas em quatro subgêneros: *Agati*, *Daubentonia*, *Pterossesbania* e *Sesbania* (Monteiro, 1984).

O subgênero *Sesbania*, originário do Velho Mundo e posteriormente disperso para o Novo Mundo (Monteiro, 1984), apresenta o maior número de espécies, sendo que dentre as perenes, apenas *S. sesban* (L.) Merrill tem sido amplamente utilizada na agricultura (Brewbaker et al., 1990). Esta é uma espécie diplóide altamente variável, com duas subespécies: ssp. *sesban*, com quatro variedades, e ssp. *punctata* (Monteiro, 1984; Bray, 1994). As variedades *sesban* e *bicolor* são muito semelhantes, exceto pela cor da flor. Essas duas variedades, mais a var. *nubica*, têm apresentado crescimento vigoroso e altas produções. Já a var. *zambesiaca* e a ssp. *punctata* são menos conhecidas (Brewbaker et al., 1990). Dentre as espécies anuais, o subgênero *Sesbania* está representado nas Américas pelas espécies *S. bispinosa*, *S. emerus*, *S. oligosperma* e *S. exasperata* (Monteiro, 1984).

Do subgênero *Agati*, originário do Velho Mundo (Austrália e Ásia), a espécie tetraplóide *S. grandiflora* tem sido extensivamente utilizada, juntamente com a

S. sesban, em sistemas agroflorestais tradicionais (Sandys-Winsch & Harris, 1992; Bray, 1994). As espécies com vagens tetra-aladas foram divididas em dois subgêneros: subgên. *Daubentonia*, nativo do Novo Mundo com cinco espécies, incluindo as espécies *S. virgata* e *S. punicea*, e subgên. *Pterosesbania*, representado por uma única espécie, *S. tetraptera* (Monteiro, 1984).

Coletas de germoplasma de *Sesbania* spp. e avaliações do material coletado têm sido realizadas pela Universidade do Havaí e pelo International Livestock Centre for Africa (ILCA) na Etiópia e Tanzânia (Mengistu, 1990; Bray, 1994), pelo Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO) na Austrália (Wood & Larkens, 1987), pelo International Centre for Research in Agroforestry (ICRAF) no Quênia (Ndungu et al., 1994), e também pela ação conjunta do Consultative Group on International Agricultural Research (CGIAR), National Agricultural Research Services (NARS), e Multipurpose Tree Germplasm Resource Unit (MPT-GRU) nos países Botswana, Malawi, Namibia, Zambia e Zimbábue, em colaboração com o International Board of Plant Genetic Resources (IBPGR), ICRAF e ILCA (Ndungu & Boland, 1994). No Brasil, Rocha et al. (1979) coletaram dez acessos correspondendo a quatro espécies de *Sesbania* (*S. exasperata*, *S. punicea*, *S. sesban* e *S. virgata*), como parte de um projeto financiado pelo Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico (BNDE) e conduzido pelo Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP e Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), no período de 1976 a 1978.

A avaliação da variabilidade genética encontrada nessas coleções de germoplasma representa uma etapa importante para programas de melhoramento. Wood & Larkens (1987) apresentam dados de crescimento e características gerais de 192 acessos do gênero *Sesbania*. A coleta de 161 acessos de *Sesbania* spp. foi relatada por Mengistu (1990), que observou grande polimorfismo para a espécie *S. sesban*, ocorrendo em grande amplitude de ambientes. A classificação de uma coleção de 108 acessos de *S. sesban* baseada em atributos morfológicos e agrônômicos foi realizada por Heering et al. (1996a,b), observando grupos distintos dentro da coleção.

O objetivo do presente trabalho foi a caracterização da variabilidade genética baseada em dados fenológicos, morfológicos e agrônômicos de 22 acessos pertencentes a sete espécies de *Sesbania*, quatro anuais e três perenes, representando os quatro subgêneros: *Sesbania*, *Pterosesbania*, *Agati* e *Daubentonia*,

bem como a estimativa de parâmetros genéticos para os caracteres em estudo e a avaliação do potencial forrageiro dessas espécies.

4.4 Material e Métodos

Foram avaliadas sete espécies de *Sesbania*, num total de 22 acessos, descritos na Tabela 3. Estas espécies representam quatro subgêneros diferentes que, originalmente, ocorrem em áreas geográficas distintas: subgênero *Sesbania* (*S. emerus*, *S. exasperata*, *S. rostrata*, *S. sesban*), originário do Velho Mundo e mais tarde disperso para o Novo Mundo; subgên. *Daubentonia* (*S. virgata*), originário das Américas; subgên. *Agati* (*S. grandiflora*, tetraplóide), originário da Austrália e Ásia; e subgên. *Pterosesbania* (*S. tetraptera*), originário da África (Monteiro, 1984).

O experimento foi instalado em outubro de 1994, com duração de dois anos e meio, no Instituto de Zootecnia, em Nova Odessa, SP, situado a 550 m de altitude, latitude 22°42'S e longitude 47°18'O. O solo é um Podzólico Vermelho-Amarelo com pH = 5,30 (CaCl₂), matéria orgânica = 3,33%, e teores de K = 0,19, Ca = 3,80, Mg = 1,15, Al = 3,68 (em meq/100cm³), P = 25,77 µg/dm³ e V = 58,22%. A temperatura média anual máxima e mínima durante o período experimental (média de 3 anos) foi 29°C e 17°C, respectivamente, com precipitação média anual de 1558 mm.

Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso, com quatro repetições e 22 tratamentos (acessos). As sementes, previamente escarificadas com uso de estilete fazendo-se uma incisão em setor oposto à região do embrião, foram semeadas em bandejas de isopor de 67 x 34 cm, contendo substrato à base de vermiculita e areia, em casa-de-vegetação. Dois meses após a germinação, as mudas foram levadas ao campo. Cada parcela era constituída por uma linha de 16 m de comprimento, com oito plantas espaçadas de 2 m entre plantas e 3 m entre linhas. Foi realizada uma calagem de 1,92 t/ha, e a aplicação, no plantio, de 500 kg/ha de superfosfato simples, 150 kg/ha de cloreto de potássio, 0,5 kg/ha de molibdato de sódio, 8 kg/ha de sulfato de zinco, 4 kg/ha de sulfato de cobre e 4 kg/ha de borato de sódio. Durante o período experimental, foram realizadas mais duas adubações, em setembro/95 e fevereiro/96, nas mesmas dosagens descritas acima.

Um total de 17 caracteres morfológicos, incluindo dois fenológicos (IFL e IFR), descritos na Tabela 4, foram avaliados nas primeiras quatro plantas da parcela. Os caracteres DC, LVAG, CS e LS foram medidos com auxílio de um paquímetro. Os 17 caracteres agrônômicos (Tabela 5), exceto AFL, AP, PRS e P1, foram obtidos nas últimas quatro plantas da parcela, submetidas a quatro cortes (abril, agosto e dezembro/95 e abril/96) na altura de 1m (Gutteridge, 1994). A cada corte o material era separado em duas frações: folhas (incluindo hastes com diâmetro < 6mm) e hastes (com diâmetro ≥ 6mm), representando o material comestível e não-comestível pelo animal, respectivamente (Figura 7).

Os dados foram submetidos à análise univariada, com o desdobramento de acessos dentro de espécies com mais de um acesso, segundo o modelo matemático:

$$Y_{ijkl} = \mu + p_i + a_{(i)} + b_j + e_{(ijl)} + d_{k(ijl)}$$

Onde: μ = média geral do caráter; p_i = efeito fixo da espécie i ($i = 1, 2, \dots, 7$); $a_{(i)}$ = efeito fixo do acesso i , dentro da espécie i ($i = 1, 2, \dots, 7$); b_j = efeito aleatório do bloco j ($j = 1, 2, \dots, 4$); $e_{(ijl)}$ = efeito aleatório do erro da parcela ijl ; $d_{k(ijl)}$ = efeito aleatório do indivíduo k , na parcela ijl ($k = 1, 2, \dots, 4$).

As análises foram realizadas com base em média de parcelas (Vencovsky & Barriga, 1992), obtendo-se as somas de quadrado e quadrados médios para blocos, espécie, acessos dentro de espécies e erro. Utilizou-se o programa SAS Versão 6 (SAS INSTITUTE, 1993) para essas análises. Os quadrados médios dentro de parcelas foram obtidos independentemente, através das médias, ponderadas pelos graus de liberdade, das estimativas das variâncias individuais dentro das parcelas (Gerald, 1977), ou seja:

$$QM_d = \sum (GL)_{ij} (QM_d)_{ij} / \sum (GL)_{ij} = \sum (SQ_d)_{ij} / \sum (GL)_{ij} \quad (1)$$

Onde: QM_d = quadrado médio dentro de cada parcela; SQ_d = soma de quadrado dentro de cada parcela; GL = número de graus de liberdade dentro de cada parcela. Calculou-se também os quadrados médios dentro para cada uma das quatro espécies com mais de um acesso ($QM_{\bar{a}i}$).

Tabela 3. Relação das espécies e acessos de *Sesbania* Scop. avaliados, com número de introdução (NO) no Banco de Germoplasma do Instituto de Zootecnia, subgênero, ciclo de vida e origem do material. Nova Odessa, 1997.

Nº	Espécie	NO	Subgênero	Ciclo	Fonte/Origem
1	<i>S. emerus</i> (Aubl.) Urban	2562	<i>Sesbania</i>	Anual	CENARGEN ¹ - BRA 000914 / CPATU ² 184
2	"	2563	"	"	CENARGEN ¹ - BRA 000060 / CPATU 1212
3	<i>S. exasperata</i> H.B.K.	1017	"	"	Fazenda Santa Elisa - Campinas, SP
4	"	1545	"	"	Itumbiara, GO
5	"	2117	"	"	CNPMS ³ - Sete Lagoas, MG
6	"	2560	"	"	CENARGEN ¹ - BRA 000086 / CPATU 1214
7	<i>S. grandiflora</i> (L.) Pers.	2559	<i>Agati</i>	Perene	Linhares, ES
8	<i>S. rostrata</i> Brem. & Oberm.	2566	<i>Sesbania</i>	Anual	CENA/USP ⁴ - CNPAF ⁵ /Goiânia, GO
9	<i>S. sesban</i> (L.) Merrill var. <i>sesban</i>	934	"	Perene	Cidade Universitária - São Paulo, SP
10	"	1030	"	"	Campinas, SP
11	"	1375	"	"	Estrada Franca-Ituverava, SP
12	"	2419	"	"	Rongwa Research Centre - Tanzânia
13	"	2529	"	"	Instituto de Pesquisas IRI - Matão, SP
14	"	2567	"	"	Central São Jorge, Cabo Verde (acc. 895)
15	<i>S. tetraptera</i> Hoechst ex Baker	1660	<i>Pterosesbania</i>	Anual	Moçambique
16	<i>S. virgata</i> (Cav.) Pers.	1256	<i>Daubentonia</i>	Perene	Rodovia Pres. Dutra - Km 110, RJ
17	"	1289	"	"	Miranda, MS
18	"	1634	"	"	Bicas, MG
19	"	2553	"	"	Piracicaba, SP
20	"	2554	"	"	Niterói, RJ
21	"	2557	"	"	Americana, SP
22	"	2565	"	"	Corumbá, MS

¹ CENARGEN - Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia; ² CPATU - Centro de Pesquisa Agrônômico do Trópico Úmido; ³ CNPMS - Centro Nacional de Pesquisa de Mato Grosso do Sul; ⁴ CENA/USP - Centro de Energia Nacional na Agricultura/ Universidade de São Paulo; ⁵ CNPAF - Centro Nacional de Pesquisa de Arroz de Feijão.

Tabela 4: Caracteres morfológicos avaliados em *Sesbania* spp. Nova Odessa, 1997.

Sigla	Caráter	Descrição dos caracteres
IFL	Início de florescimento	Nº de dias até a abertura da 1ª flor
IFR	Início de frutificação	Nº de dias até o aparecimento da 1ª vagem madura
DC	Diâmetro do caule	Avaliado no 6º mês após a semeadura, na altura de 1m.
CF	Comprimento da folha	Medido na 10ª folha a partir do ápice (média de 3 folhas)
NPF	Número de pares de folíolos	Obtido na 10ª folha a partir do ápice (média de 3 folhas)
CFOLI	Comprimento do folíolo	Medido no folíolo mediano da 10ª folha a partir do ápice (média de 3 folhas)
LFOLI	Largura do folíolo	Medido no ponto mais largo do mesmo folíolo da 10ª folha a partir do ápice (média de 3 folhas)
CI	Comprimento da inflorescência	Média de 5 inflorescências
NFL	Número de flores	Número de flores por inflorescência (média de 5 inflorescências)
CP	Comprimento do pedicelo	Média de 5 flores
CFL	Comprimento da flor	Média de 5 flores
CVAG	Comprimento da vagem	Média de 5 vagens, incluindo o pedicelo
LVAG	Largura da vagem	Média de 5 vagens, medida no ponto de maior diâmetro
NSV	Número de sementes por vagem	Média de 5 vagens
SGR	Porcentagem de sementes granadas	Média de 5 vagens
CS	Comprimento da semente	Média de 5 sementes
LS	Largura da semente	Média de 5 sementes

Tabela 5. Caracteres agrônômicos avaliados em *Sesbania* spp. Nova Odessa, 1997.

Sigla	Caráter	Descrição dos caracteres
AFL	Altura da planta no florescimento	Avaliada nas plantas não cortadas durante o florescimento, seis meses após a semeadura (abr/95)
AP	Altura da planta aos 18 meses	Avaliada nas plantas não cortadas, 18 meses após a semeadura (abr/96)
PRS	Produção de sementes	Peso total de sementes colhidas nas plantas não cortadas
PMSF1	Produção de matéria seca de folhas 1	Produção (g) do 1º corte realizado em abril/95
PMSF2	Produção de matéria seca de folhas 2	Produção (g) do 2º corte realizado em agosto/95
PMSF3	Produção de matéria seca de folhas 3	Produção (g) do 3º corte realizado em dezembro/95
PMSF4	Produção de matéria seca de folhas 4	Produção (g) do 4º corte realizado em abril/96
PMSH1	Produção de matéria seca de hastes 1	Produção (g) do 1º corte realizado em abril/95
PMSH2	Produção de matéria seca de hastes 2	Produção (g) do 2º corte realizado em agosto/95
PMSH3	Produção de matéria seca de hastes 3	Produção (g) do 3º corte realizado em dezembro/95
PMSH4	Produção de matéria seca de hastes 4	Produção (g) do 4º corte realizado em abril/96
PB1	Porcentagem de proteína bruta 1	Porcentagem de proteína bruta na fração folhas do 1º corte
PB2	Porcentagem de proteína bruta 2	Porcentagem de proteína bruta na fração folhas do 2º corte
PB3	Porcentagem de proteína bruta 3	Porcentagem de proteína bruta na fração folhas do 3º corte
PB4	Porcentagem de proteína bruta 4	Porcentagem de proteína bruta na fração folhas do 4º corte
P1	Persistência 1	Porcentagem de plantas sobreviventes (plantas não cortadas), avaliada 28 meses após a semeadura
P2	Persistência 2	Porcentagem de plantas sobreviventes (plantas que sofreram cortes), avaliada 28 meses após a semeadura

Figura 7. A) Fração folhas e fração hastes pesadas separadamente; B) corte à altura de 1m; C) parcelas de *S. exasperata* e *S. rostrata* após o corte; D) parcela de *S. sesban* (nº 9) após o corte. Nova Odessa, 1997.

A análise de variância e as esperanças do quadrado médio utilizadas estão esquematizadas na Tabela 6, onde: σ^2_d = variância fenotípica entre plantas dentro de parcelas; σ^2_e = variância do erro ambiental entre parcelas; V_a = medida da diversidade genética entre acessos; V_{ai} = medida da diversidade genética entre acessos da espécie i ($i = 1, \dots, 4$); V_p = medida da diversidade genética entre espécies; J = número de repetições; $\bar{k}$ = número médio de plantas por parcela; $\bar{L}$ = número médio de acessos por espécie (média aritmética); $\bar{c}$ = coeficiente obtido para corrigir para o diferente número de acessos por espécie.

Tabela 6. Esquema da análise de variância e esperanças dos quadrados médios utilizadas.

FV	GL	QM	E(QM)
Blocos	(J-1)		-
Espécie	(I-1)	Q8	$\sigma^2_d / \bar{k} + \sigma^2_e + J \bar{c} V_p$
Acessos/Espécie	I(L-1)	Q7	$\sigma^2_d / \bar{k} + \sigma^2_e + J V_a$
Acess/S. <i>emerus</i>	(L ₁ -1)	Q6	$\sigma^2_d / \bar{k} + \sigma^2_e + J V_{a1}$
Acess/S. <i>exasperata</i>	(L ₂ -1)	Q5	$\sigma^2_d / \bar{k} + \sigma^2_e + J V_{a2}$
Acess/S. <i>sesban</i>	(L ₃ -1)	Q4	$\sigma^2_d / \bar{k} + \sigma^2_e + J V_{a3}$
Acess/S. <i>virgata</i>	(L ₄ -1)	Q3	$\sigma^2_d / \bar{k} + \sigma^2_e + J V_{a4}$
Resíduo	J $\bar{L}$ - 1	Q2	$\sigma^2_d / \bar{k} + \sigma^2_e$
Erro dentro de parcelas		Q1	σ^2_d

Devido à ocorrência de diferentes números de plantas por parcela, consequência da morte de algumas plantas, calculou-se o número médio de plantas por parcela ($\bar{k}$) através da média harmônica:

$$\bar{k} = N / \sum n(1/k) \quad (2)$$

Sendo N = número total de parcelas; n = número de parcelas com k plantas; k = número de plantas por parcela ($k = 1, \dots, 4$). Da mesma forma, foram obtidos os números médios de plantas por parcela para cada espécie separadamente ($\bar{k}_i$).

Devido ao diferente número de acessos por espécie, calculou-se também o coeficiente ($\bar{c}$) visando corrigir este problema, segundo a fórmula descrita por Weir (1996):

$$\bar{c} = \frac{1}{p-1} \left(\sum_{i=1}^p c_i - \frac{\sum_i c_i^2}{\sum_i c_i} \right) \quad (3)$$

Onde p = nº de espécies; c_i = nº de acessos na espécie i .

A variância fenotípica dentro de espécies ($\hat{\sigma}^2_d$), a variância do erro ambiental entre parcelas ($\hat{\sigma}^2_e$), a diversidade genética entre espécies ($\hat{V}_p$), e entre acessos dentro das espécies *S. emerus* ($\hat{V}_{a1}$), *S. exasperata* ($\hat{V}_{a2}$), *S. sesban* ($\hat{V}_{a3}$) e *S. virgata* ($\hat{V}_{a4}$), foram estimados a partir dos quadrados médios, segundo as equações:

$$\hat{\sigma}^2_d = Q_1 = QM_d \quad (4)$$

$$\hat{\sigma}^2_e = Q_2 - Q_1 / \bar{k} \quad (5)$$

$$\hat{V}_p = (Q_8 - Q_2) / \bar{c}J \quad (6)$$

$$\hat{V}_{a1} = (Q_6 - Q_2) / J \quad (7)$$

$$\hat{V}_{a2} = (Q_5 - Q_2) / J \quad (8)$$

$$\hat{V}_{a3} = (Q_4 - Q_2) / J \quad (9)$$

$$\hat{V}_{a4} = (Q_3 - Q_2) / J \quad (10)$$

A partir desses valores foram obtidas as estimativas da variância fenotípica intraespecífica ($\hat{\sigma}^2_{Fi}$), do coeficiente de determinação genotípica intraespecífica (b_i), e do coeficiente de variação genética intraespecífica (CVg_i), pelas equações:

$$\hat{\sigma}^2_{Fi} = \hat{V}_{ai} + (\hat{\sigma}^2_e / J) + (\hat{\sigma}^2_d / J\bar{k}_i) \quad (11)$$

$$b_i = \hat{V}_{ai} / \hat{\sigma}^2_{Fi} \quad (12)$$

$$CVg_i = \sqrt{\hat{V}_{ai}} / \mu_i \times 100 \quad (13)$$

Onde μ_i = média da espécie i .

4.5 Resultados

As Tabelas 7 e 8 apresentam as estimativas da variância, dos coeficientes de variação (CV), de determinação genotípica intraespecífica (b_i) e de variação genética intraespecífica (CVg_i) para os caracteres morfológicos. Foi observada variação interespecífica altamente significativa ($P < 0,001$) para todos os caracteres. Quanto à variação intraespecífica, 76,5% dos caracteres morfológicos mostraram diferenças significativas entre acessos de *S. emerus*, com 53% destes significativos a $P < 0,001$. Para *S. exasperata*, 100% dos caracteres morfológicos mostraram diferenças significativas entre acessos, com 88% dos caracteres apresentando diferenças significativas a $P < 0,001$. Para *S. sesban* e *S. virgata*, respectivamente, 82 e 71% dos caracteres mostraram diferenças significativas entre acessos, com 71 e 53% dos caracteres mostrando diferenças significativas a $P < 0,001$. A espécie que apresentou maior variação intraespecífica foi, portanto, *S. exasperata*, seguida em ordem decrescente das espécies *S. sesban*, *S. emerus* e *S. virgata*.

De modo geral, os valores do coeficiente de determinação genotípica (b_i) foram altos, acima de 0,80, indicando a possibilidade de seleção para esses caracteres. Já os valores do CVg_i , que indicam a magnitude da variabilidade genética existente com relação à média do caráter, variaram bastante de acordo com o caráter e a espécie. O caráter diâmetro do caule (DC), por exemplo, apresentou valor alto do CVg_i para *S. emerus*, 89,78%, e também um valor alto de b_i , 0,9977, indicando grande possibilidade de seleção para este caráter e a presença de variabilidade genética para esta seleção atuar. As médias apresentadas pelos dois acessos de *S. emerus* para DC são bastante contrastantes, ou seja, 7,3 vs 32,7mm (Tabela 9). Para *S. sesban*, o valor de b_i para DC foi elevado, 0,9181, mas o CVg_i foi baixo, 16,96%, ou seja, existe pouca variabilidade genética para este caráter. Mesmo assim, existe possibilidade de seleção devido ao elevado valor de b_i . As médias para DC variaram de 12,4 a 20,3mm para *S. sesban*.

Outro caráter que apresentou tanto o b_i como o CVg_i elevado foi início do florescimento (IFL) para *S. emerus* (Tabela 7), cujas médias variaram de 42,1 a 175 dias para o florescimento (Tabela 9), indicando precocidade para o acesso nº 1 (NO 2562). Os acessos de *S. sesban* não apresentaram variação significativa para IFL.

Tabela 7. Estimativa da variância entre (V_p) e dentro (V_a) de *Sesbania* spp. e dos coeficientes de variação (CV), de determinação genotípica intraespecífica (b_h) e de variação genética intraespecífica (CVg_1), para os caracteres morfológicos: início de florescimento (IFL), início de frutificação (IFR), diâmetro do caule (DC), comprimento da folha (CF), comprimento (CFOLI) e largura (LFOLI) do folíolo, número de pares de folíolos (NPF) e comprimento da inflorescência (CI). Nova Odessa, 1997.

FV	IFL (nº dias)	IFR (nº dias)	DC (cm)	CF (cm)	CFOLI (cm)	LFOLI (cm)	NPF (nº)	CI (cm)
Espécie (V_p)	526,6311 ^a	1932,1517 ^a	16,0067 ^a	49,5725 ^a	1,0086 ^a	0,2188 ^a	7,8239 ^a	7,9619 ^a
Acessos dentro de:								
<i>S. emerus</i> (V_{a1})	8734,7984 ^a	5022,6767 ^a	321,6845 ^a	44,1694 ^a	0,0045	≅0,0000	210,7540 ^a	0,1236
<i>S. exasperata</i> (V_{a2})	1848,4937 ^a	2540,1082 ^a	3,4586 ^a	48,0781 ^a	0,0802 ^a	0,0074 ^a	129,7140 ^a	6,1582 ^a
<i>S. sesban</i> (V_{a3})	63,2710 ²	1719,6155 ^a	7,9239 ^a	1,2369 ^b	0,1223 ^a	0,0049 ^a	14,1687 ^a	3,4960 ^a
<i>S. virgata</i> (V_{a4})	2858,5877 ^a	2739,4679 ^a	0,9327 ^c	4,3141 ^a	0,1192 ^a	0,0047 ^a	0,8423 ^b	1,1869 ^a
Média	157,7 ± 2,11	243,9 ± 3,53	16,8 ± 0,18	18,6 ± 0,11	2,8 ± 0,01	0,8 ± 0,01	21,8 ± 0,11	7,7 ± 0,07
CV (%)	12,24	13,28	9,97	5,57	4,59	4,72	4,98	7,92
b_h	0,9934	0,9571	0,9977	0,9943	0,5582	- ³	0,9985	0,5988
b_2	0,9689	0,9188	0,8081	0,9941	0,9516	0,9530	0,9977	0,9824
b_3	0,5110	0,8785	0,9181	0,8358	0,9694	0,9402	0,9796	0,9709
b_4	0,9493	0,8957	0,6320	0,9415	0,9663	0,9116	0,7705	0,9364
CVg_1 (%)	86,09	38,11	89,78	47,01	5,14	-	51,34	9,21
CVg_2 (%)	27,57	23,70	8,38	35,44	12,40	14,46	47,98	21,59
CVg_3 (%)	4,89	15,93	16,96	10,26	15,61	14,37	19,01	23,69
CVg_4 (%)	30,35	18,47	7,23	8,02	8,79	4,99	4,47	16,51

¹ Significativo a $P < 0,001$ (a), $P < 0,01$ (b), $P < 0,05$ (c).

² Não significativo a $P > 0,05$.

³ Dados não estimados.

Tabela 8. Estimativa da variância entre e dentro de *Sesbania* spp. e dos coeficientes de variação (CV), de determinação genotípica intraespecífica (b_i) e de variação genética intraespecífica (CVg_i), para os caracteres morfológicos: número de flores/inflorescência (NFL), comprimento do pedúnculo (CP), comprimento da flor (CFL), comprimento (CVAG) e largura da vagem (LVAG), comprimento (CS) e largura da semente (LS), número de sementes por vagem (NSV) e porcentagem de sementes granadas (SGR). Nova Odessa, 1997.

FV	NFL (n°)	CP (cm)	CFL (cm)	CVAG (cm)	LVAG (cm)	CS (cm)	LS (cm)	NSV (n°)	SGR (%)
Espécie (V_p)	152,4164 ^a	0,2040 ^a	0,9629 ^a	55,8596 ^a	0,1095 ^a	0,0317 ^a	0,0160 ^a	189,4384 ^a	135,6366 ^a
Acessos dentro de:									
<i>S. emerus</i> (V_{a1})	2,8782 ^b	0,0091 ^b	0,0150 ^b	0,1655	0,0022 ^a	0,0079 ^a	0,0006 ^a	79,3061 ^a	37,1697 ^c
<i>S. exasperata</i> (V_{a2})	4,9572 ^a	0,3041 ^a	0,0452 ^a	7,4416 ^a	0,0002 ^b	0,0085 ^a	0,0001 ^b	37,0672 ^a	127,8382 ^a
<i>S. sesban</i> (V_{a3})	7,3191 ^a	0,0305 ^a	0,0164 ^a	3,8018 ^a	0,0003 ^b	0,0015 ^a	≅ 0,0000	33,7496 ^a	≅ 0,0000
<i>S. virgata</i> (V_{a4})	4,0263 ^a	0,0003 ²	≅ 0,0000	0,0075	0,0011 ^a	0,0001 ^b	0,0001 ^a	≅ 0,0000	1,2994
Média	14,9 ± 0,1	0,9 ± 0,0	2,0 ± 0,0	14,0 ± 0,1	0,6 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,3 ± 0,0	19,8 ± 0,2	83,8 ± 0,6
CV (%)	7,47	5,19	3,71	6,42	2,67	2,32	3,10	7,81	6,03
b_1	0,9193	0,9407	0,9131	0,4384	0,9714	0,9948	0,9630	0,9916	0,8828
b_2	0,9511	0,9973	0,9707	0,9719	0,8078	0,9959	0,8313	0,9828	0,9374
b_3	0,9638	0,9807	0,9196	0,9452	0,8319	0,9767	0,1608	0,9800	- ³
b_4	0,9121	0,3892	-	0,0399	0,9380	0,7619	0,8497	-	0,1869
CVg_1 (%)	42,68	14,92	7,08	2,17	14,83	23,95	11,40	27,00	6,63
CVg_2 (%)	41,51	34,82	5,99	12,79	3,31	20,40	3,68	21,04	16,14
CVg_3 (%)	30,29	20,38	6,21	12,34	4,82	10,18	0,97	21,75	-
CVg_4 (%)	6,72	2,84	-	1,48	3,57	1,58	2,47	-	1,24

¹ Significativo a $P < 0,001$ (a), $P < 0,01$ (b), $P < 0,05$ (c).

² Não significativo a $P > 0,05$.

³ Dados não estimados.

Tabela 9. Médias dos caracteres: início de florescimento (IFL) e de frutificação (IFR), diâmetro do caule (DC), comprimento da folha (CF), número de pares de folíolo (NPF), comprimento (CFOLI) e largura do folíolo (LFOLI), e comprimento da inflorescência (CI), avaliados em *Sesbania* spp. Nova Odessa, 1997.

Nº	Espécie	IFL (dias)	IFR (dias)	DC (mm)	CF (cm)	NPF (nº)	CFOLI (mm)	LFOLI (mm)	CI (cm)
1	<i>S. emerus</i>	42,1 g	134,6 g	7,3 j	9,4 h	18,0 fghi	14 ij	3,6 i	4,1 hi
2	"	175,0 bcde	237,4 bcdef	32,7 a	18,8 d	38,5 a	12 j	3,5 i	3,5 i
3	<i>S. exasperata</i>	135,9 def	183,2 efg	20,5 cd	20,1 d	21,8 cde	24 ef	6,3 de	13,9 a
4	"	122,9 f	180,7 efg	23,0 bc	13,7 ef	17,6 ghi	19 h	4,7 gh	12,1 b
5	"	144,1 def	195,2 efg	19,1 cde	15,3 e	15,1 i	23 fg	6,8 d	11,9 b
6	"	220,7 b	291,5 abcd	26,2 b	29,2 a	40,3 a	25 ef	6,0 def	8,0 de
7	<i>S. grandiflora</i>	- ²	-	12,9 hi	26,0 bc	21,3 cde	35 d	12,5 c	-
8	<i>S. rostrata</i>	132,4 def	180,6 efg	22,3 bc	15,6 e	22,6 bcd	23 fg	5,9 def	4,0 hi
9	<i>S. sesban</i>	180,0 bcd	289,0 abcd	16,5 defgh	12,5 fg	25,4 b	20 gh	5,0 fg	9,3 cd
10	"	155,6 cdef	237,0 bcdef	17,5 defg	11,7 fgh	19,7 defg	23 ef	4,8 g	8,4 de
11	"	167,7 cdef	307,6 abc	12,4 hi	10,1 gh	16,3 hi	25 ef	5,6 efg	7,3 ef
12	"	144,6 def	192,5 efg	18,8 cdef	11,4 fgh	17,5 ghi	22 fg	4,6 gh	10,0 c
13	"	157,8 cdef	296,2 abcd	14,1 ghi	10,0 gh	16,4 hi	26 e	5,7 efg	7,7 de
14	"	170,1 bcdef	239,7 bcdef	20,3 cd	9,3 h	23,4 bc	17 hi	3,7 hi	4,6 ghi
15	<i>S. tetraptera</i>	128,9 ef	173,7 fg	13,4 ghi	15,7 e	21,6 cde	23 ef	6,1 de	11,8 b
16	<i>S. virgata</i>	183,1 bcd	321,6 ab	12,6 hi	26,1 bc	21,6 cde	39 bc	14,0 ab	6,0 fg
17	"	141,6 def	264,7 bcde	14,5 fghi	29,6 a	20,0 defg	46 a	14,8 a	8,0 de
18	"	284,2 a	372,6 a	11,7 ij	24,4 c	20,6 cdef	37 cd	13,1 bc	5,6 gh
19	"	134,0 def	219,5 defg	12,7 hi	24,3 c	19,0 efgh	39 bc	14,4 a	7,3 ef
20	"	203,2 bc	315,0 abc	12,9 hi	24,9 c	21,5 cde	37 cd	13,3 bc	5,4 gh
21	"	152,6 cdef	254,7 bcdef	13,6 ghi	23,9 c	21,4 cde	35 d	12,8 c	5,9 fg
22	"	134,5 def	235,0 cdef	15,4 efghi	27,8 ab	19,4 efg	41 b	14,0 ab	7,9 de

¹ As médias nas colunas seguidas da mesma letra não diferem entre si ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

² Dados não obtidos.

Tabela 10. Médias dos caracteres: número de flores (NFL), comprimento do pedúnculo (CP), comprimento da flor (CFL), comprimento (CVAG) e largura da vagem (LVAG), número de sementes por vagem (NSV), porcentagem de sementes granadas (SGR), comprimento (CS) e largura da semente (LS), avaliados em *Sesbania* spp. Nova Odessa, 1997.

nº	Espécie	NFL (nº)	CP (mm)	CFL (mm)	CVAG (cm)	LVAG (mm)	NSV (nº)	SGR (%)	CS (mm)	LS (mm)
1	<i>S. emerus</i>	2,7 j	7,1 fg	16 gh	18,3 cd	3,5 e	26,6 d	87,2 abc	4,3 d	2,2 f
2	"	5,2 hij	5,7 h	18 fg	19,2 cd	2,8 f	39,3 a	96,6 ab	3,1 g	1,9 g
3	<i>S. exasperata</i>	4,3 ij	19,7 a	36 ab	24,0 a	4,6 d	31,5 c	83,6 bcd	5,0 c	2,7 cde
4	"	4,5 ij	17,0 b	35 b	20,1 bc	4,5 d	24,7 de	90,7 abc	5,0 c	2,6 de
5	"	3,9 ij	18,9 a	38 a	18,0 cd	4,8 d	23,1 de	83,0 cde	4,9 c	2,8 cd
6	"	8,8 fg	7,7 ef	33 c	23,2 a	4,4 d	36,3 ab	63,7 f	3,1 g	2,5 e
7	<i>S. grandiflora</i>	- ²	-	-	-	-	-	-	-	-
8	<i>S. rostrata</i>	10,6 f	14,1 c	22 d	21,8 ab	4,6 d	34,8 bc	64,7 f	3,6 f	2,9 c
9	<i>S. sesban</i>	14,3 e	8,2 ef	22 d	13,2 f	3,3 e	21,6 e	69,5 f	3,8 f	1,9 g
10	"	7,8 fgh	10,4 d	20 de	15,2 ef	3,2 ef	23,8 de	71,9 def	3,9 ef	2,0 fg
11	"	7,9 fgh	8,5 e	19 ef	-	-	-	-	-	-
12	"	8,0 fgh	10,8 d	19 ef	17,7 d	3,5 e	26,4 d	70,0 ef	4,2 de	2,0 fg
13	"	9,2 fg	7,2 efg	20 de	-	-	-	-	-	-
14	"	6,5 ghi	6,3 gh	22 d	17,1 de	3,6 e	35,0 bc	68,8 f	3,2 g	2,0 fg
15	<i>S. tetraptera</i>	10,3 f	14,8 c	16 h	17,0 de	12,0 a	21,8 e	97,6 a	4,3 d	2,7 cde
16	<i>S. virgata</i>	30,5 abc	5,7 h	11 i	6,3 g	9,4 b	4,6 f	94,0 abc	7,3 ab	4,4 b
17	"	31,8 ab	6,2 gh	11 i	5,1 g	8,5 c	4,1 f	94,8 abc	7,1 b	4,6 ab
18	"	29,0 bcd	5,6 h	11 i	5,8 g	9,1 b	4,6 f	88,2 abc	7,2 ab	4,4 b
19	"	33,1 a	5,9 gh	11 i	6,1 g	9,2 b	4,9 f	89,1 abc	7,1 b	4,5 ab
20	"	26,9 d	5,8 h	11 i	6,0 g	9,2 b	4,5 f	90,9 abc	7,2 ab	4,5 ab
21	"	28,5 cd	5,8 h	11 i	6,3 g	9,5 b	4,7 f	93,5 abc	7,4 a	4,6 ab
22	"	29,2 bcd	6,4 gh	11 i	5,4 g	9,1 b	4,2 f	95,0 abc	7,1 ab	4,7 a

¹ As médias nas colunas seguidas da mesma letra não diferem entre si ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

² Dados não obtidos

Os caracteres comprimento do pedicelo (CP), da vagem (CVAG) e porcentagem de sementes granadas (SGR) apresentaram baixos valores tanto de h^2 como de CVg^2 para *S. virgata* (Tabela 8), indicando baixa variabilidade genética para esses caracteres. A variância foi nula para os caracteres comprimento da flor (CFL) e número de sementes por vagem (NSV) em *S. virgata*, largura do folíolo (LFOLI) em *S. emerus*, e largura da sementes (LS) e SGR em *S. sesban* (Tabelas 7, 8, 9 e 10).

Para os caracteres agronômicos (Tabelas 11 e 12), 80,0% dos caracteres apresentaram diferenças significativas entre acessos de *S. emerus*, com 77,8; 86,7; e 33,3% dos caracteres mostrando diferenças significativas entre acessos de *S. exasperata*, *S. sesban* e *S. virgata*, respectivamente. A espécie que apresentou maior variação intraespecífica para os dados agronômicos foi *S. sesban*. Os únicos caracteres que não apresentaram variação genética para *S. sesban* foram produção de matéria seca de haste (PMSH) do 1º ao 4º corte e produção de sementes (PRS), cuja variância foi aproximadamente nula. Os demais caracteres mostraram diferenças significativas entre acessos para esta espécie. Valores elevados tanto de h^2 como de CVg^2 foram observados para *S. sesban* para os caracteres produção de MS de folhas (PMSF) em todos os cortes e PMSH no 2º, 3º e 4º corte. Grande variação foi observada para estes caracteres (Tabela 13) a partir do 2º corte, destacando-se o acesso nº 9 (NO 934), com produções de forragem superiores aos demais acessos (Figuras 7D, 8A e 8B). Tal resultado pode ser evidenciado na Figura 9, que apresenta as PMSF dos quatro cortes, observando-se a superioridade do acesso nº 9 de *S. sesban*, bem como as diferenças entre espécies anuais e perenes (Figura 8C). As espécies anuais, *S. exasperata*, *S. rostrata* e *S. tetraptera*, exceto *S. emerus*, apresentaram as maiores PMSF no primeiro corte, perdendo para as espécies perenes *S. sesban* e *S. virgata*, após o segundo corte. A espécie perene *S. grandiflora* teve baixa produção de matéria seca.

Quanto à porcentagem de proteína bruta (PB), com exceção das espécies anuais *S. rostrata* e *S. tetraptera*, no primeiro corte foram observados valores elevados, acima de 22%, para todos os acessos (Tabela 14). No entanto, houve queda acentuada a partir do segundo corte, exceto para *S. virgata* (Figura 8D), que manteve valores mais elevados até o terceiro corte. O acesso nº 9 de *S. sesban*, que se destacou em termos de PMSF e PMSH, apresentou valor mais elevado no primeiro

Tabela 11. Estimativa da variância entre e dentro de *Sesbania* spp. e dos coeficientes de variação (CV), de determinação genotípica intraespecífica (h^2) e de variação genética intraespecífica (CV_g) para os caracteres agrônômicos: produção de matéria seca de folhas do 1º, 2º, 3º e 4º cortes (PMSF1, PMSF2, PMSF3, PMSF4), e produção de matéria seca de hastes do 1º, 2º e 3º cortes (PMSF1, PMSF2, PMSF3). Nova Odessa, 1997.

FV	PMSF1 (g)	PMSF2 (g)	PMSF3 (g)	PMSF4 (g)	PMSH1 (g)	PMSH2 (g)	PMSH3 (g)
Espécie (V_p)	23113,46 ^a	217676,50 ^a	216097,09 ^a	31834,36 ^a	6406,36 ^a	107465,35 ^a	35145,58 ^a
Acessos dentro de:							
<i>S. emerus</i> (V_{a1})	≅ 0,00	- ³	-	-	16998,09 ^a	-	-
<i>S. exasperata</i> (V_{a2})	49237,51 ^a	0,00	-	-	5963,54 ^a	5127,99	-
<i>S. sesban</i> (V_{a3})	4498,28 ^c	260727,09 ^a	721593,73 ^a	165553,75 ^a	≅ 0,00	207285,04 ^a	133574,37 ^a
<i>S. virgata</i> (V_{a4})	≅ 0,00	66643,23 ^a	46630,04 ²	30227,06 ^a	≅ 0,00	22377,66 ^a	≅ 0,00
Média	240,5 ± 10,4	671,4 ± 21,2	1373,0 ± 48,9	443,4 ± 18,8	77,6 ± 4,4	327,9 ± 15,4	578,46 ± 31,7
CV (%)	40,59	27,15	27,58	32,66	51,47	40,14	42,10
b_1	-	-	-	-	0,9767	-	-
b_2	0,9505	-	-	-	0,9323	0,5805	-
b_3	0,6668	0,9673	0,9546	0,9784	-	0,9731	0,8955
b_4	-	0,9014	0,5685	0,8482	-	0,8622	-
CV_{g1} (%)	-	-	-	-	113,85	-	-
CV_{g2} (%)	56,45	-	-	-	45,31	65,87	-
CV_{g3} (%)	33,52	41,97	59,07	95,78	-	61,97	73,61
CV_{g4} (%)	-	46,41	13,63	31,81	-	91,55	-

¹ Significativo a $P < 0,001$ (a), $P < 0,01$ (b), $P < 0,05$ (c).

² Não significativo a $P > 0,05$.

³ Dados não estimados.

Tabela 12. Estimativa da variância entre e dentro de *Sesbania* spp. e dos coeficientes de variação (CV), de diversidade genotípica intraespecífica (b_i) e de variação genética intraespecífica (CVg_i), para os caracteres agronômicos produção de MS de hastes do 4º corte, porcentagem de proteína bruta do 1º, 2º, 3º e 4º cortes (PB1, PB2, PB3, PB4), altura da planta no florescimento (AFL), altura da planta 18 meses após a semeadura (AP), e produção de sementes (PRS). Nova Odessa, 1997.

FV	PMSH4 (g)	PB1 (%)	PB2 (%)	PB3 (%)	PB4 (%)	AFL (m)	AP (m)	PRS (g)
Espécie (V_p)	20016,46 ^a	8,8976 ^a	29,9055 ^a	1,9446 ^a	0,6618 ^c	0,5899 ^a	0,4011 ^a	11028,75 ^a
Acessos dentro de:								
<i>S. emerus</i> (V_{a1})	- ³	26,1378 ^a	-	-	-	1,8750 ^a	-	5727,41 ^c
<i>S. exasperata</i> (V_{a2})	-	16,6858 ^a	29,4715 ^a	10,6282 ^a	-	0,3082 ^a	-	25779,69 ^a
<i>S. sesban</i> (V_{a3})	12797,96 ^a	2,5888 ^b	8,3486 ^a	4,3558 ^a	2,8439 ^b	0,1254 ^a	1,2046 ^a	≅ 0,00
<i>S. virgata</i> (V_{a4})	2365,76 ²	≅ 0,0000	3,1200 ^b	2,0285 ^b	≅ 0,0000	0,0071	0,0312	1174,34
Média	252,7 ± 11,4	25,8 ± 0,19	17,4 ± 0,20	19,1 ± 0,20	16,0 ± 0,21	2,2 ± 0,02	3,8 ± 0,05	122,3 ± 7,29
CV (%)	34,19	6,74	9,79	8,54	10,30	9,80	9,37	51,98
b_1	-	0,9706	-	-	-	0,9935	-	0,8573
b_2	-	0,9562	0,9765	0,9206	-	0,9542	-	0,9594
b_3	0,9005	0,7685	0,9177	0,8733	0,8170	0,9194	0,9713	-
b_4	0,5414	-	0,8236	0,7590	-	0,4184	-	0,5558
CVg_1 (%)	-	19,61	-	-	-	51,96	-	81,09
CVg_2 (%)	-	15,93	43,33	19,83	-	16,49	-	73,73
CVg_3 (%)	86,74	6,24	21,40	11,28	10,86	17,79	26,90	-
CVg_4 (%)	13,14	-	7,76	7,10	-	5,06	-	42,37

¹ Significativo a $P < 0,001$ (a), $P < 0,01$ (b), $P < 0,05$ (c).

² Não significativo a $P > 0,05$.

³ Dados não estimados.

Tabela 13. Médias dos caracteres produção de matéria seca de folhas do 1º, 2º, 3º e 4º cortes (PMSF1, PMSF2, PMSF3, PMSF4), produção de MS de hastes do 1º, 2º, 3º e 4º cortes (PMSH1, PMSH2, PMSH3, PMSH4), avaliados em *Sesbania* spp. Nova Odessa, 1997.

nº	Espécie	PMSF1	PMSH1	PMSF2	PMSH2	PMSF3	PMSH3	PMSF4	PMSH4
		(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)
1	<i>S. emerus</i>	160 cde	21 cd	- ²	-	-	-	-	-
2	"	193 cde	208 ab	51 g	71 e	-	-	-	-
3	<i>S. exasperata</i>	631 a	264 a	322 fg	30 e	-	-	-	-
4	"	538 ab	207 ab	389 efg	99 e	-	-	-	-
5	"	242 cde	88 cd	269 fg	38 e	-	-	-	-
6	"	160 cde	122 bc	186 g	252 de	384 d	345 bdce	44 h	135 cde
7	<i>S. grandiflora</i>	17 e	8 d	104 g	51 e	491 cd	243 cde	173 efgh	195 bcde
8	<i>S. rostrata</i>	674 a	285 a	-	-	-	-	-	-
9	<i>S. sesban</i>	277 cd	42 cd	2123 a	1336 a	3006 a	1076 a	1146 a	321 abc
10	"	240 cde	44 cd	1268 bc	772 b	1455 bc	586	210 efgh	56 de
11	"	98 de	23 cd	732 def	266 de	671 cd	122 de	107 fgh	-
12	"	250 cde	56 cd	1115 bcd	643 bc	1158 bcd	375 bcde	285 efgh	87 de
13	"	90 de	24 cd	709 def	214 de	660 cd	72 e	69 gh	12 e
14	"	246 cde	62 cd	1353 b	1177 a	1678 b	748 abc	706 bcd	247 bcd
15	<i>S. tetraptera</i>	364 bc	46 cd	-	-	-	-	-	-
16	<i>S. virgata</i>	147 cde	23 cd	481 efg	77 e	2022 b	931 ab	488	381 ab
17	"	164 cde	33 cd	820 cde	340 cde	1180 bcd	549	832 ab	501 a
18	"	126 cde	15 d	453 efg	69 e	1669 b	688	411 defg	336 abc
19	"	145 cde	18 d	334 fg	44 e	1792 b	698 abcd	512	389 ab
20	"	95 de	13 d	458 efg	88 e	1658 b	808 abc	459 cdef	316 abc
21	"	160 cde	22 cd	302 fg	71 e	1430 bc	687	338 efgh	309 abc
22	"	215 cde	37 cd	1046 bcd	454 bcd	1339 bcd	748 abc	785 abc	358 ab

¹ As médias nas colunas seguidas da mesma letra não diferem entre si ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

² Dados não obtidos.

Tabela 14. Médias dos caracteres proteína bruta do 1º, 2º, 3º e 4º corte, (PB1, PB2, PB3, PB4), altura da planta no florescimento (AFL), altura da planta 18 meses após a semeadura (AP), produção de sementes (PRS), e persistência das plantas não cortadas (P1) e das plantas cortadas (P2), avaliados em *Sesbania* spp. Nova Odessa, 1997.

nº	Espécie	PB1 (%)	PB2 (%)	PB3 (%)	PB4 (%)	AFL (m)	AP (m)	PRS (g)	P1 (%)	P2 (%)
1	<i>S. emerus</i>	22,4 gh	2	-	-	1,7 ghi	-	35,3 cd	0,0	0,0
2	"	29,7 abc	-	-	-	3,6 a	-	151,4 bcd	0,0	0,0
3	<i>S. exasperata</i>	23,8 defgh	9,4 e	-	-	3,9 a	-	391,3 a	0,0	0,0
4	"	22,9 efgh	10,9 e	14,9 e	-	3,7 a	-	288,6 ab	0,0	0,0
5	"	24,1 defg	9,2 e	-	-	3,3 ab	-	183,1 bc	0,0	0,0
6	"	31,9 ab	20,8 bc	20,7 abc	14,8 ab	2,6 cd	2,8 fg	7,9 d	0,0	0,0
7	<i>S. grandiflora</i>	32,5 a	22,1 ab	20,2 abc	18,1 a	1,0 j	3,2 efg	-	43,7	0,0
8	<i>S. rostrata</i>	19,4 hi	-	-	-	3,0 bc	-	305,6 ab	0,0	0,0
9	<i>S. sesban</i>	28,2 abcd	13,0 de	17,5 bcde	13,3 b	1,9 efghi	5,1 a	33,8 cd	81,2	0,0
10	"	25,3 cdefg	13,4 de	19,7 abc	15,9 ab	2,2 defg	4,4 abc	3,3 d	68,7	6,2
11	"	25,8 cdefg	17,1 cd	20,9 abc	17,1 ab	1,6 ghi	2,6 g	-	43,7	0,0
12	"	26,0 cdefg	9,5 e	16,8 cde	14,7 ab	2,3 def	4,8 ab	27,7 cd	93,7	33,3
13	"	26,6 cdefg	16,8 cd	20,5 abc	18,3 a	1,5 hij	2,8 fg	-	6,2	0,0
14	"	22,6 fgh	11,1 e	15,4 de	13,9 b	2,5 cde	4,8 ab	11,9 d	87,5	37,5
15	<i>S. tetraptera</i>	17,4 i	-	-	-	2,1 defgh	-	316,7 ab	0,0	0,0
16	<i>S. virgata</i>	27,1 cdef	23,7 ab	19,3 abcd	15,8 ab	1,6 hij	3,8 cde	82,9 cd	100,0	100,0
17	"	26,8 cdefg	20,1 bc	22,2 a	16,6 ab	1,8 fghi	3,6 cdef	53,7 cd	87,5	87,5
18	"	27,8 bcd	24,1 ab	18,1 abcde	16,6 ab	1,6 hij	3,7 cde	52,0 cd	100,0	100,0
19	"	27,0 cdefg	25,2 a	21,8 a	16,6 ab	1,7 fghi	3,4 defg	69,9 cd	100,0	100,0
20	"	27,5 bcde	22,4 ab	18,7 abcde	15,9 ab	1,5 ij	3,8 cde	52,9 cd	100,0	100,0
21	"	26,9 cdefg	23,6 ab	19,0 abcde	15,4 ab	1,6 ghi	4,0 bcde	71,1 cd	100,0	81,2
22	"	27,9 abcd	20,2 bc	21,2 ab	17,4 ab	1,9 efghi	4,2 abcd	183,5 bc	100,0	81,2

¹ As médias nas colunas seguidas da mesma letra não diferem entre si ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

² Dados não obtidos.

Figura 8. A) *S. sesban* (nº 9); B) variabilidade genética observada para *S. sesban* (nº 9) à esquerda e (nº 12) à direita;

C) *S. sesban* (à esquerda) e *S. emerus* (à direita, final do ciclo); D) *S. virgata* (nº 22). Nova Odessa, 1997.

Figura 9. Produção de matéria seca (MS) do 1º, 2º, 3º e 4º cortes (PMSF1, PMSF2, PMSF3, PMSF4) para *S. emerus* (1-2), *S. exasperata* (3-6), *S. grandiflora* (7), *S. rostrata* (8), *S. sesban* (9-14), *S. tetraptera* (15), e *S. virgata* (16-22). Nova Odessa, 1997.

Figura 10. Altura da planta aos 6 meses (abr/95), 14 meses (dez/95) e 18 meses (abr/96) após a semeadura para *S. emerus* (1-2), *S. exasperata* (3-6), *S. grandiflora* (7), *S. rostrata* (8), *S. sesban* (9-14), *S. tetraptera* (15), e *S. virgata* (16-22). Nova Odessa, 1997.

corte, mas sofreu redução acentuada após o segundo corte, com valores de 28, 13, 17 e 13% do primeiro para o quarto corte, respectivamente, e um valor médio de 18% de PB.

Quanto à altura da planta no florescimento (AFL), avaliada seis meses após a semeadura nas plantas que não sofreram cortes, as espécies anuais *S. emerus* (nº 2), *S. exasperata* e *S. rostrata* foram as que se destacaram (Tabela 14), devido ao rápido crescimento apresentado. Na altura da planta (AP) avaliada 18 meses após a semeadura nas plantas não submetidas a cortes periódicos, o destaque foi para a espécie *S. sesban*, atingindo alturas superiores a 5 m (Figura 10). A PRS foi mais elevada para as espécies anuais citadas acima, além de *S. tetraptera*.

No final do experimento, 28 meses após a semeadura, foi realizada uma avaliação da persistência dos acessos (Tabela 14), anotando-se a porcentagem de plantas sobreviventes na parcela. Observou-se que as espécies anuais não persistiram até esta data e, de modo geral, as plantas que não sofreram cortes apresentaram maior persistência. Ocorreu grande variação para *S. sesban*, com persistência de acessos variando de 93,7 a 6,2%. *S. virgata* apresentou maior persistência tanto para plantas cortadas como para não cortadas, mostrando, portanto, maior perenidade que *S. sesban* e *S. grandiflora*.

4.6 Discussão

Foi observada grande variabilidade interespecífica para todos os caracteres avaliados, o que é um resultado esperado, considerando que se está comparando espécies de ciclo anual e perene, pertencentes a diferentes subgêneros. Foi também observada variação intraespecífica para *S. emerus*, *S. exasperata*, *S. sesban* e *S. virgata* para diversos caracteres. A variação intraespecífica para *S. grandiflora*, *S. rostrata* e *S. tetraptera* não pôde ser estimada por estarem essas espécies representadas por um único acesso neste trabalho. *S. exasperata* foi a que apresentou variação intraespecífica para o maior número de caracteres morfológicos, o mesmo sendo observado para *S. sesban* para caracteres agrônômicos.

S. emerus está representada neste estudo por dois acessos bastante contrastantes para diversos caracteres. Pensou-se, inclusive, na hipótese de serem

esses acessos pertencentes a espécies diferentes, devido às grandes diferenças observadas entre ambos para os caracteres IFL, IFR, DC, CF, NPF, CP, LVAG, NSV, CS, LS, PMSH1, PB1 e AFL (Tabelas 9, 10, 13 e 14). No entanto, os resultados obtidos nas análises de eletroforese de isoenzimas, realizadas com as sementes obtidas neste experimento, descritas no item 6, confirmam a identificação desses dois acessos como pertencentes à mesma espécie, já que os padrões de bandas obtidos para ambos os acessos foram bastante semelhantes. Fica evidente, portanto, que apesar da pequena amostra utilizada neste estudo, existe grande variabilidade genética para *S. emerus*, o que corrobora com a ampla distribuição geográfica desta espécie. Este último fator, associado à plasticidade morfológica expressa em diferentes áreas de sua ocorrência gerou, também, um histórico taxonômico complexo para a espécie (Monteiro, 1984).

A variabilidade genética observada para *S. exasperata* (Tabelas 7, 8, 11 e 12) se deve em grande parte ao acesso nº 6, que diferiu significativamente ($P < 0,05$) dos demais acessos da espécie para os caracteres IFL, IFR, CF, NPF, CI, NFL, CP, CFL, NSV, SGR, CS, PB1, PB2, PB3, AFL e PRS (Tabelas 9, 10, 13 e 14). Este acesso foi classificado num grupo isolado nas análises de agrupamento com dados morfológicos, agronômicos e de isoenzimas, descritas nos itens 5 e 6.

S. sesban, representada por seis acessos, apresentou grande variabilidade genética para diversos caracteres, tais como IFR, DC, NPF, CFOLI, LFOLI, CI, NFL, CP, CFL, CVAG, NSV, CS, PMSF (2º ao 4º corte), PB (1º ao 4º corte), AFL e AP (Tabelas 9, 10, 13 e 14). Diferenças significativas ($P < 0,05$) entre acessos de *S. sesban* 56 dias após a semeadura, foram observadas para os caracteres altura da planta e peso seco da parte aérea (Veasey et al., 1997). Neste estágio, as plantas já apresentavam alturas variando de 59 a 81cm, refletindo o rápido crescimento que essas espécies apresentam se comparadas com os acessos avaliados de *Leucaena leucocephala*, variando de 18 a 22 cm.

Os dados observados no presente trabalho para a razão comprimento da folha (CF)/comprimento da inflorescência (CI) não concordam com a descrição botânica de *S. sesban* na literatura, que considera que, à exceção das demais espécies, o CI é maior que o CF (Monteiro, 1984). Os acessos de *S. sesban* apresentaram, em média, CF = 10,83 cm e CI = 7,88 cm, numa relação CF/CI = 1,37, discordando, portanto, da literatura neste sentido. A relação CF/CI para as demais

espécies aqui avaliadas foi 3,71 para *S. emerus*, 1,70 para *S. exasperata*, 3,90 para *S. rostrata*, 1,33 para *S. tetraptera*, e 3,93 para *S. virgata*.

Mengistu (1990), avaliando 161 acessos de *Sesbania* spp. coletados em diversas zonas ecológicas da Tanzânia, observou grande polimorfismo para a espécie *S. sesban*, com variações no tamanho, produção de sementes, enfolhamento, ocorrendo também em grande amplitude de ambientes, como altitude (200 a 2200m), precipitação (600 a 1400mm; média anual), vegetação (savanas, estepe, floresta tropical, semiárida) e grande variedade de solos. Variação para produção de matéria seca de folhas e produção de sementes foi também observada por Heering (1995) para *S. sesban*. Karachi et al. (1994) observaram diferenças significativas ($P < 0,05$) entre acessos de *S. sesban* para altura da planta, diâmetro do caule, número médio de ramos primários, número médio de ramos secundários + terciários, número de dias para o florescimento e produção de matéria seca de folhas e hastes. Heering et al. (1996a,b) classificaram uma coleção de 108 acessos de *S. sesban* em grupos distintos baseado em dados morfológicos e agrônômicos, separando em dois grandes grupos os acessos das variedades *sesban* e *bicolor* dos acessos da var. *nubica*. Esses dois grupos foram separados principalmente devido aos caracteres morfológicos número e tamanho de folíolos, tamanho e cor da semente, e hábito de crescimento (Heering et al., 1996a).

S. virgata também apresentou diferenças significativas ($P < 0,05$) entre acessos para os caracteres IFL, IFR, CF, CFOLI, LFOLI, CI, NFL, LVAG, PMSF2, PMSF4 e PMSH2 (Tabelas 9, 10 e 13). Esta espécie pertence ao subgênero *Daubentonia* e é nativa do Novo Mundo (Monteiro, 1984), sendo de ocorrência bastante comum próximo a margens de rios e áreas úmidas em diversas regiões do Brasil. Os sete acessos avaliados neste estudo foram coletados nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Mato Grosso do Sul, incluindo área do pantanal matogrossense (Tabela 3), o que demonstra a ampla distribuição geográfica desta espécie no Brasil. *S. virgata* apresenta potencial em termos de PMSF, PMSH e PB. No entanto, o uso como planta forrageira é duvidoso. Suspeita-se que possam existir fatores anti-nutritivos ou princípios tóxicos que limitem o uso desta espécie como forrageira. Tsuhako et al. (1989) relataram a presença de princípios tóxicos nas sementes de *S. virgata*. O uso desta espécie para recuperação de solos pobres e controle de erosão foi avaliado por Franco et al. (1990), em solos cujos horizontes A e

B haviam sido removidos, obtendo-se melhores resultados com as espécies *Mimosa caesalpiniaefolia* e *Acacia auriculiformis*, do que com as espécies *Sesbania virgata* e *Gliricidia sepium*.

As Tabelas 15 e 16 apresentam as amplitudes de variação obtidas no presente estudo para os caracteres morfológicos, comparadas com os dados observados por Monteiro (1984) para *S. emerus*, *S. exasperata*, *S. sesban*, *S. virgata* e *S. grandiflora*, e por Gutteridge et al. (1995) para *S. sesban*. Algumas observações se aproximam dos dados obtidos por Monteiro (1984), como os caracteres comprimento da flor (CFL) e comprimento da vagem (CVAG) para *S. emerus*, comprimento da folha (CF), largura do folíolo (LFOLI), comprimento do pedicelo (CP), largura da vagem (LVAG) e largura da sementes (LS) para *S. sesban*, e largura da vagem (LVAG) e comprimento da semente (CS) para *S. virgata*. Mas a maioria das observações diferem dos dados obtidos por Monteiro (1984). O caráter CF em *S. exasperata*, por exemplo, variou de 10,5 a 26,6 cm no presente estudo e de 20 a 40 cm em Monteiro (1984). Observa-se, portanto, a grande variabilidade para comprimento da folha presente em *S. exasperata*. Num outro exemplo, o caráter número de sementes por vagem (NSV) em *S. virgata* variou de 1 a 8 sementes no presente estudo, e de 5 a 9 em Monteiro (1984). Deve-se ressaltar que Monteiro (1984) baseou seu trabalho de revisão taxonômica para as espécies de *Sesbania* do Novo Mundo em material herborizado, e que algumas restrições morfométricas sempre são encontradas em espécimes desidratados. No entanto, grande amplitude geográfica foi considerada nesta revisão.

Gutteridge et al. (1995) observaram variação de 10 a 50 sementes por vagem em *S. sesban*, enquanto que no presente estudo este caráter variou de 11 a 46 sementes, número bastante aproximado dos autores citados. Por outro lado, Gutteridge et al. (1995) observaram a amplitude de 6 a 27 pares de folíolos por folha em *S. sesban*, enquanto que no presente estudo foi obtida a amplitude de 9 a 30 pares de folíolos.

Com relação a dados de fenologia, *S. sesban* apresentou o início de florescimento (IFL) nos meses de março a abril, variando de 128 a 195 dias após a semeadura. O IFR para os acessos avaliados ocorreu dos 162 aos 378 dias após a semeadura (Tabela 15). Sedi & Humphreys (1992) constataram que o florescimento de *S. sesban* var. *nubica* é insensível ao comprimento do dia, mas sensível à temperatura. Wood & Larkens (1987) observaram maior variabilidade para IFL entre acessos de

Tabela 15. Amplitude de variação dos caracteres¹ fenológicos e morfológicos das espécies *S. emerus*, *S. exasperata*, *S. sesban* e *S. virgata*, em comparação com os dados obtidos por Monteiro (1984) e Gutteridge et al. (1995) para *S. sesban*. Nova Odessa, 1997.

Caráter ¹	<i>S. emerus</i>			<i>S. exasperata</i>			<i>S. sesban</i>			<i>S. virgata</i>		
	Neste estudo	Monteiro (1984)		Neste estudo	Monteiro (1984)		Neste estudo	Monteiro (1984)	Gutteridge et al. (1995)	Neste estudo	Monteiro (1984)	
IFL (DAS) ²	38 - 181	- ³		119 - 248	-		128 - 195	-	-	121 - 384	-	
IFR (DAS)	125 - 240	-		174 - 310	-		162 - 378	-	-	174 - 455	-	
DC (cm)	4,4 - 40,2	-		10,7 - 33,2	-		6,3 - 25,3	-	- 10	7,4 - 19,7	-	
CF (cm)	5,5 - 23,8	15 - 30		10,5 - 26,6	20 - 40		6,3 - 16,8	8 - 15	2 - 18	18,6 - 40,1	7 - 30	
CFOLI (mm)	11 - 19	25		15 - 33	30		13 - 34	20 - 30	26	30 - 55	15 - 30	
LFOLI (mm)	3 - 5	3		3 - 10	5		3 - 7	4 - 6	5	10 - 19	5 - 10	
NPF (nº)	13 - 47	20 - 60		10 - 47	15 - 30		9 - 30	10 - 20	6 - 27	14 - 25	8 - 25	
CI (cm)	0,8 - 9	2 - 8		10 - 22,5	5 - 18		1,8 - 20,7	10 - 20	- 20	2 - 12	6 - 8	
CFL (mm)	14 - 20	15 - 25		30 - 41	18 - 30		15 - 25	12 - 18	-	10 - 13	8 - 12	
NFL (nº)	1 - 7	1 - 5		1 - 13	2 - 6		3 - 20	3 - 12	2 - 20	7 - 40	10 - 19	
CP (mm)	3 - 10	5 - 15		5 - 29	4 - 7		4 - 14	4 - 12	-	4 - 8	-	
CVAG (cm)	11,4 - 34	10 - 30		11,5 - 29	25 - 30		7,4 - 23,2	15 - 20	20 - 30	2,8 - 8,6	4 - 7	
LVAG (mm)	2,4 - 4,0	3,5		3,6 - 5,2	4 - 7		2,7 - 4,1	3 - 4,5	2 - 5	7 - 10,8	6 - 10	
CS (mm)	2,6 - 5,5	3 - 4		2,7 - 5,6	4 - 5		2,8 - 4,8	3,5 - 4	3 - 4,5	5,5 - 8,4	5 - 7	
LS (mm)	1,5 - 2,8	2		1,9 - 3	2		1,6 - 2,4	2 - 2,2	2	3,9 - 5,5	3,5 - 4	
NSV (nº)	15 - 48	25 - 50		10 - 47	30 - 40		11 - 46	15 - 30	10 - 50	1 - 8	5 - 9	
SGR (%)	72,9 - 9,5	-		29,3 - 100	-		43,7 - 94,5	-	-	61,5 - 100	-	

¹ Caracteres descritos na Tabela 4.

² Dias após a semeadura.

³ Dados não obtidos.

Tabela 16. Amplitude de variação dos caracteres morfológicos das espécies *S. grandiflora*, *S. rostrata* e *S. tetraptera* obtidos no presente estudo, em comparação com os dados obtidos por Monteiro (1984) para *S. grandiflora*. Nova Odessa, 1997.

Caráter ¹		<i>S. grandiflora</i>		<i>S. rostrata</i>	<i>S. tetraptera</i>
		Neste estudo	Monteiro (1984)	Neste estudo	Neste estudo
IFL	(DAS) ²	- ³	-	128 – 139	119 - 139
IFR	(DAS)	-	-	174 – 184	163 - 188
DC	(cm)	8,9 - 18,0	-	17,8 - 27,9	7,4 - 23,2
CF	(cm)	21,7 - 33,5	25 - 30	10,8 - 22,8	12,7 - 20,2
CFOLI	(mm)	28 - 43	25 - 35	0,9 - 3,2	1,8 - 2,8
LFOLI	(mm)	10 - 15	7 - 10	0,4 - 0,7	0,5 - 0,7
NPF	(nº)	14 - 25	10 - 25	18 – 27	15 - 28
CI	(cm)	-	10 - 20	2,2 - 6,6	5,3 - 17,5
CFL	(mm)	-	50 - 100	2,0 - 2,7	1,4 - 2,0
NFL	(nº)	-	2 - 4	5 – 15	5 - 15
CP	(mm)	-	20	1,1 - 1,8	1,0 - 2,0
CVAG	(cm)	-	-	15,6 - 26,2	13,4 - 19,4
LVAG	(mm)	-	-	0,39 - 0,55	1,01 - 1,43
CS	(mm)	-	6	0,28 - 0,37	0,40 - 0,55
LS	(mm)	-	4	0,17 - 0,24	0,23 - 0,30
NSV	(nº)	-	25 - 40	13 – 46	16 - 26
SGR	(%)	-	-	43,7 - 88,0	90,1 - 100,0

¹ Caracteres descritos na Tabela 4;

² Dias após a semeadura.

³ Dados não obtidos.

S. sesban, de 75 a 218 dias após a semeadura. Já, Karachi et al. (1994) avaliou acessos mais precoces, florescendo de 59 a 97 dias após a semeadura, enquanto que Heering (1994) avaliou acessos florescendo de 102 a 153 dias após a semeadura, valor este obtido após 50% das plantas terem florescido.

De todas as espécies avaliadas, a mais precoce foi *S. emerus*, cujo acesso nº 1 floresceu dos 38 aos 45 dias após a semeadura. Esta espécie iniciou o florescimento nos meses de dezembro a abril e apresentou o IFR de fevereiro a junho. *S. virgata* apresentou acessos mais tardios, com IFL variando de 121 a 384 dias após a semeadura, ou seja, de fevereiro a novembro. O IFR desta espécie ocorreu de abril a

dezembro. *S. exasperata* floresceu nos meses de fevereiro a junho, de 119 a 248 dias após a semeadura. *S. tetraptera* floresceu de fevereiro a março, de 119 a 149 dias após a semeadura (Tabela 14). Wood & Larkens (1987) avaliaram um único acesso de *S. virgata*, que iniciou o florescimento aos 115 dias após a semeadura, de *S. exasperata*, florescendo aos 106 dias e frutificando aos 141 dias e de *S. tetraptera*, que floresceu aos 111 dias e frutificou aos 158 dias após a semeadura.

S. rostrata iniciou o florescimento em março, variando de 128 a 139 dias após a semeadura e frutificou em abril, dos 174 aos 184 dias (Tabela 16). Wood & Larkens (1987) observaram IFL aos 112 dias após a semeadura e IFR aos 173 dias para *S. rostrata*. Florescimento mais precoce foi obtido por Joshua & Ramani (1993), 35 a 40 dias após a semeadura para plantas testemunha e plantas M₂ em um ensaio visando a indução de mutação com raios gama.

S. grandiflora não floresceu durante todo o período experimental e apresentou baixas produções de matéria seca de folhas e hastes, se comparada às demais espécies perenes, podendo-se concluir que esta espécie não é indicada para esta região. No entanto, mais acessos desta espécie deveriam ser avaliados antes de se chegar a uma conclusão mais definitiva.

A diferença entre espécies anuais e perenes pode ser observada na Figura 9, onde no primeiro corte as espécies anuais *S. exasperata* (acessos nº 3 e 4), *S. rostrata* (nº 8) e *S. tetraptera* (nº 15) foram as mais produtivas. Já a espécie anual *S. emerus* teve produções de forragem mais baixas que as demais espécies anuais. A partir do segundo corte, observa-se a superioridade da espécie perene *S. sesban*, seguida de *S. virgata*, e a redução da PMSF das espécies anuais. O pico de produção para as espécies perenes foi atingido no 3º corte, realizado em dezembro de 1995, um ano após o plantio das mudas no campo. Observou-se o destaque dos acessos nº 9 e 14 de *S. sesban*, ambos da subespécie *sesban* var. *sesban*, mas principalmente o acesso nº 9 (NO 934). Veasey et al. (1995) também observaram a superioridade deste acesso para produção de matéria seca de folhas e hastes, e altura da planta. No quarto corte, realizado em abril de 1996, observou-se queda acentuada se comparado com as produções do terceiro corte, evidenciando a curta perenidade das espécies de *Sesbania*.

Heering (1995) constatou que a maioria dos acessos avaliados de *S. sesban* atingiram sua produção máxima antes ou durante o segundo corte, com as

produções de MS decrescendo rapidamente logo após. Alguns acessos de *S. sesban* avaliados por Heering et al. (1996b), no entanto, classificados num grupo à parte na análise de agrupamento realizada, mantiveram alta produtividade mesmo após o segundo corte. Bray et al. (1997) também observaram a menor perenidade das espécies *S. sesban* e *S. grandiflora*, da mesma forma que *Cajanus cajan*, *Codariocalyx gyroides* e *Desmodium discolor*. Os autores comentam sobre o importante papel que essas espécies podem exercer quando cultivadas com espécies mais perenes, como fontes precoces de alimentação animal, na forma de bancos de proteína, enquanto as espécies perenes estão se desenvolvendo até atingirem seu pico de produção.

Outra comparação entre espécies anuais e perenes pode ser feita com relação à produção de sementes (PRS), que com exceção do acesso nº 1 de *S. emerus* e nº 6 de *S. exasperata*, foi bem maior para as espécies anuais *S. emerus* (nº 2), *S. exasperata*, *S. rostrata* e *S. tetraptera* que para as perenes (Tabela 14). Reis (1984) também observou maior produção de sementes e produção de brácteas e flores para a espécie anual *Stylosanthes humilis*, quando comparada às espécies perenes *S. guianensis*, *S. hamata* e *S. scabra*, o que está de acordo com a teoria de seleção r e seleção k (MacArthur & Wilson, 1967), que atribui maior esforço reprodutivo a populações de ciclo de vida mais curto e maturidade sexual precoce que populações perenes, tardias, sujeitas a ambientes mais estáveis.

Entre os acessos de *S. sesban*, embora não significativo estatisticamente, o acesso nº 9 mais uma vez mostrou-se superior aos demais, com a maior média de produção de sementes, 33,8 vs 3,3g/planta produzido pelo acesso nº 10. Os acessos nº 11 e 13, ambos da variedade *bicolor*, praticamente não produziram sementes. Heering (1995) observou grande variação para produção de sementes entre seis acessos de *S. sesban*, em condições de cortes periódicos, com mais sementes sendo produzidas em árvores cortadas a cada seis meses. O autor observou também que o acesso mais tardio produziu a menor quantidade de sementes.

5 VARIABILIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE ESPÉCIES DE *Sesbania* SCOP.

III. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E AGRONÔMICA BASEADA NA ANÁLISE MULTIVARIADA

5.1 Resumo

Sete espécies de *Sesbania* foram avaliadas, num total de 22 acessos, visando caracterizar a variabilidade genética tanto inter como intraespecífica, através da análise multivariada, definir quais os caracteres mais importantes para a discriminação dos acessos, e avaliar o potencial agronômico desses acessos. O experimento foi conduzido no Instituto de Zootecnia em Nova Odessa, SP, em blocos ao acaso com 22 tratamentos e quatro repetições. Cada parcela era constituída por linhas de oito plantas espaçadas de 2 m entre plantas e 3 m entre linhas. As quatro primeiras plantas foram reservadas para a obtenção de dados morfológicos, incluindo dois caracteres fenológicos, totalizando 17 caracteres. Nas quatro restantes, submetidas a quatro cortes realizados na altura de um metro, foram avaliados nove caracteres agronômicos. Os dados foram submetidos às análises de componentes principais e de agrupamento. A análise de componentes principais indicou que a variância acumulada pelos dois primeiros componentes foi 74,4 e 77,0% para dados morfológicos e agronômicos, respectivamente. Dois grandes grupos se formaram na análise de agrupamento para dados morfológicos, separando os acessos de *S. virgata*, subgênero *Daubentonia*, de todos os demais. A análise de agrupamento para dados agronômicos classificou os acessos em três grupos de espécies perenes, que apresentaram maior produção de biomassa, e três grupos com espécies anuais, que se sobressaíram principalmente com relação à produção de sementes. Realizou-se um descarte de variáveis, selecionando-se um total de oito caracteres, sendo quatro morfológicos e quatro agronômicos. A análise de agrupamento com os oito caracteres

selecionados separou os acessos em cinco grupos, evidenciando tanto a variabilidade inter como intraespecífica.

GENETIC VARIABILITY IN ACCESSIONS OF *Sesbania* Scop. SPECIES III. MORPHOLOGICAL AND AGRONOMIC CHARACTERIZATION BASED ON MULTIVARIATE ANALYSIS

5.2 Summary

Seven species of *Sesbania* were investigated, in a total of 22 accessions, in order to: 1) characterize both inter as well as intraspecific genetic variability through multivariate methods; 2) define the most important characters for discriminating the accessions; and 3) evaluate the agronomic potential of the accessions. The experiment was conducted at the Instituto de Zootecnia, in Nova Odessa, SP, Brazil, in complete randomized blocks with 22 treatments and four replications. Each plot consisted of a row of eight plants spaced at 2 m between plants and 3 m between rows. Morphological data, totalizing 17 characters, including two phenological characters, was obtained in the first four plants in each row. In the four remaining plants, submitted to four cuts at a height of 1 m, nine agronomic characters were evaluated. Data were submitted to principal component and cluster analyses. The principal component analysis indicated that the accumulated variance from the two first components was 74.4 and 77.0% for morphological and agronomic data, respectively. Two main groups were formed in the cluster analysis for morphological data, with one consisting solely of accessions of *S. virgata*, subgenus *Daubentonia*. The cluster analysis with agronomic data classified the perennial species, that provided greater biomass production, in three groups, and the annual species, that stood out principally in relation to seed production, in three other groups. A character discard resulted in a selection of eight characters, four morphological and four agronomic. The cluster analysis with the eight selected characters classified the accessions in five groups, evidencing as much inter as intraspecific variability.

5.3 Introdução

O interesse no uso de leguminosas arbustivas e arbóreas como fonte de forragem tem sido crescente nos últimos anos, principalmente nos trópicos e subtropicais (Gutteridge, 1990; Shelton et al., 1991; Lourenço, 1996). As árvores fornecem sombra, biomassa e proteção física ao solo, sendo que seus efeitos podem se manifestar de várias formas, afetando ao mesmo tempo o meio ambiente, a produção e qualidade da forragem, no caso a gramínea associada, e os animais (Carvalho, 1994).

Dentre as leguminosas arbustivas e arbóreas utilizadas, o gênero *Sesbania* contém diversas espécies anuais e perenes promissoras, apresentando rápido crescimento, podendo ser utilizadas como forrageira, adubo verde, cobertura do solo, fornecimento de madeira, lenha, sombra, e em sistemas agroflorestais tradicionais (Ndoye et al., 1990; Bray, 1994). Devido ao rápido crescimento, nodulação vigorosa e altos níveis de fixação de nitrogênio, as espécies de *Sesbania* são apropriadas para o melhoramento da fertilidade do solo (Macklin et al., 1990). A avaliação de diversas espécies de *Sesbania*, tanto perenes como anuais, realizada por Evans & Rotar (1987), indicou a presença de grande diversidade de hábitos de crescimento e potencial produtivo dessas espécies, sugerindo a necessidade de coletas mais amplas de germoplasma, incluindo espécies importantes como *S. sesban*, e estudos biosistemáticos.

Coletas de germoplasma de *Sesbania* spp. têm sido realizadas no Havaí, Austrália, Brasil, Etiópia, Tanzânia, Quênia e outros países no sul da África (Rocha et al., 1979; Wood & Larkens, 1987; Mengistu, 1990; Bray, 1994; Ndungu et al., 1994; Ndungu & Boland, 1994). Mengistu (1990) relatou a coleta de 161 acessos representando 12 espécies coletadas em várias zonas ecológicas da Tanzânia, com a maioria dos acessos pertencentes às espécies *S. sesban* e *S. macrantha*, refletindo a ampla distribuição dessas espécies na Tanzânia, considerada o centro de diversidade do gênero na África. Acessos de *S. sesban* var. *nubica* e *S. keniensis* foram coletados por Ndungu et al. (1994) no Quênia. Wood & Larkens (1987) avaliaram 192 acessos de *Sesbania* no sudeste de Queensland, Austrália, identificando 28 espécies e seis variedades botânicas, observando variabilidade inter e intraespecífica para diversos caracteres.

A análise multivariada, principalmente as análises de componentes principais e de agrupamento (Mardia et al., 1979; Cruz & Regazzi, 1994), têm sido utilizadas para a avaliação de bancos de germoplasma quando se estudam diversos caracteres e um grande número de acessos. Estudos desta natureza têm sido realizados com as espécies forrageiras *Macrotyloma* spp. (Blumenthal et al., 1989), *Neonotonia wightii* (Ghisi et al., 1994), *Cajanus cajan* (Santos et al., 1995), *Sesbania sesban* (Heering et al., 1996a,b), *Panicum maximum* (Dias-Filho et al., 1994), *Paspalum* spp. (Batista & Godoy, 1997; Strapasson, 1997), *Pennisetum purpureum* (Daher et al., 1997), entre outros. Heering et al. (1996a,b) avaliaram uma coleção de 108 acessos de *S. sesban*, com base em atributos morfológicos e agrônômicos, utilizando as análises de componentes principais e de agrupamento, e identificando grupos distintos. Os dados morfológicos classificaram os acessos em dois grandes grupos, um deles contendo as variedades *sesban* e *bicolor*, e o outro grupo contendo a variedade *nubica*. Os autores observaram grande variabilidade para produção de matéria seca após o primeiro e o segundo corte para *S. sesban*. Batista & Godoy (1997), avaliaram 11 acessos de *Paspalum notatum* através de 28 descritores vegetativos, 19 reprodutivos e 12 agrônômicos, observando a existência de variabilidade genética quantitativa e qualitativa entre os acessos avaliados.

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar a variabilidade genética tanto inter como intraespecífica em táxons de *Sesbania*, utilizando dados morfológicos e agrônômicos, determinar o grau de similaridade entre espécies e acessos através de distâncias Euclidianas e definir os caracteres mais importantes para a discriminação dos acessos. A comparação de espécies de diferentes subgêneros, de espécies anuais e perenes, e a avaliação do potencial agrônômico dos acessos/espécies em estudo foram também objetivos do presente trabalho.

5.4 Material e Métodos

Sete espécies de *Sesbania* Scop. foram avaliadas neste trabalho, num total de 22 acessos (Tabela 3), representando quatro subgêneros diferentes que, originalmente, apresentam áreas de ocorrência distintas: subgênero *Sesbania*, originário do Velho Mundo e posteriormente disperso no Novo Mundo; subgên.

Daubentonia, originário das Américas; subgên. *Agati*, originário da Austrália e Ásia; e subgên. *Pterosesbania*, originário da África (Monteiro, 1984).

A metodologia experimental adotada, bem como tipo de solo e clima do local foram previamente descritos no item 4.4. Foram avaliados 17 caracteres morfológicos, incluindo-se dois fenológicos (Tabela 4), nas primeiras quatro plantas da parcela. Os caracteres diâmetro do caule (DC), largura da vagem (LVAG), comprimento (CS) e largura da semente (LS), foram medidos com auxílio de um paquímetro. Nove caracteres agronômicos (Tabela 17), foram avaliados nas quatro plantas restantes da parcela, exceto altura da planta no florescimento (AFL), altura da planta/dia (AP/D) e produção de sementes (PRS). Essas plantas foram submetidas a quatro cortes (abril, agosto e dezembro/95 e abril/96) na altura de 1m (Gutteridge, 1994). A cada corte o material era separado em duas frações: folhas (incluindo-se hastes com diâmetro $< 6\text{mm}$) e hastes (com diâmetro $\geq 6\text{mm}$), representando o material comestível e não-comestível pelo animal, respectivamente.

Para as análises multivariadas do presente trabalho, foram estimadas as produções diárias de matéria seca (MS) de folhas e de hastes, considerando-se o total de um a quatro cortes, dividido pelo número de dias da semeadura até o último corte. Tal procedimento fez-se necessário pelo fato de se estar comparando em um mesmo experimento espécies anuais, com um ou no máximo dois cortes, e espécies perenes, com até quatro cortes avaliados. O mesmo procedimento foi adotado para porcentagem de proteína bruta, altura de rebrota e altura da planta. Análises univariadas para dados de cada corte foram apresentadas no item 4.

Foram realizadas análises de componentes principais (Mardia et al., 1979) e de agrupamento (Cruz & Regazzi, 1994), analisando-se separadamente os dados morfológicos e agronômicos. Os acessos nº 11 (NO 1375) e nº 13 (NO 2529) de *S. sesban* e o único acesso de *S. grandiflora*, acesso nº 7 (NO 2559), não participaram dessas análises por não terem florescido e/ou produzido vagens, tornando seus dados incompletos. A análise de componentes principais e as correlações entre os caracteres foram obtidos pelos procedimentos PROC PRINCOMP e PROC CORR do programa SAS Versão 6 (SAS INSTITUTE, 1993). As análises de agrupamento foram realizadas

Tabela 17. Caracteres agrônômicos avaliados em espécies de *Sesbania* Scop. Nova Odessa, 1997.

Sigla	Caráter	Descrição
AFL	Altura da planta no florescimento	Avaliada nas plantas não cortadas, por ocasião do florescimento, seis meses após a semeadura (abr/95)
AP/D	Altura da planta/dia	Total de 1 a 3 avaliações (abr/95, dez/95, abr/96) realizadas nas plantas não cortadas, dividido pelo nº de dias até a última avaliação
AR/D	Altura de rebrota/dia	Total de 1 a 4 avaliações realizadas antes de cada corte, dividido pelo nº de dias até a última avaliação.
PMSF/D	Produção de MS de folhas/dia	Total da produção de matéria seca de folhas de 1 a 4 cortes, dividido pelo nº de dias até o último corte
PMSH/D	Produção de MS de hastes/dia	Total da produção de matéria seca de hastes de 1 a 4 cortes, dividido pelo nº de dias até o último corte
PB/D	Porcentagem de proteína bruta/dia	Total da porcentagem de proteína bruta obtida na fração folhas de 1 a 4 cortes, dividido pelo número de dias até o último corte
PRS	Produção de sementes	Peso total de sementes colhidas nas plantas não cortadas
V	Vigor	Avaliado por notas ¹ cinco meses após a geminação
VR	Vigor de rebrota	Avaliado por notas ¹ aos 20 dias após cada corte (valor médio)

¹ Notas de 1 a 5, sendo 1 = péssimo e 5 = excelente.

com o programa Statistica for Windows Versão 5.1 (Stat Soft, 1996), utilizando-se a distância Euclideana como medida de dissimilaridade e o método UPGMA (Unweighed pair group method with arithmetic average) (Cruz & Regazzi, 1994).

Os gráficos de dispersão dos acessos e dos caracteres avaliados para os dois primeiros componentes foram elaborados utilizando-se o programa ORIGIN Versão 3.5 (MICROCAL SOFTWARE, 1994). Realizou-se um descarte de variáveis, de acordo com o critério proposto por Jolliffe (1972 e 1973), utilizado também por Strapasson (1997), Santos et al. (1995) e Daher et al. (1997), desprezando-se a variável de maior coeficiente, em cada componente com autovalor menor que 0,70. Novas análises de componentes principais e de agrupamento foram realizadas considerando somente os caracteres selecionados.

5.5 Resultados

5.5.1 Caracteres morfológicos

As estimativas das variâncias de cada componente (autovalores), a porcentagem acumulada destas estimativas e os autovetores dos quatro primeiros componentes principais obtidos a partir dos 17 caracteres morfológicos, encontram-se na Tabela 18. O primeiro componente concentrou 57,48% da variância total, o segundo 16,9%, o terceiro 10,25% e o quarto 6,13%. A variância acumulada pelos dois primeiros componentes foi de 74,38%, o que é uma porcentagem relativamente alta da variação total, próximo de 80% que, segundo Mardia et al. (1979), explica satisfatoriamente a variabilidade manifestada entre os indivíduos avaliados. A variância acumulada pelos quatro primeiros componentes foi de 90,76%. Os treze últimos componentes concentraram pouco da variação total, apenas 9,24%.

A Figura 11 apresenta as dispersões gráficas dos acessos e dos caracteres avaliados com relação aos dois primeiros componentes principais. Observa-se nitidamente a separação dos acessos de *S. virgata*, subgênero *Daubentonia*, dos acessos das demais espécies, o que também se observa na análise de agrupamento para dados morfológicos (Figura 12), classificando os acessos em dois grandes grupos, com os acessos de *S. virgata* em um dos grandes grupos (grupo I) e as demais

espécies e acessos no outro grande grupo (grupos II, III, IV, V, VI e VII). Os grupos formados foram: I - *S. virgata* (16-22), II - *S. emerus* (2), III - *S. exasperata* (6), IV - *S. emerus* (1), V - *S. tetraptera* (15), VI - *S. exasperata* (3-5), VII - *S. rostrata* (8) e *S. sesban* (9-10, 12, 14).

Tabela 18. Estimativas das variâncias (autovalores), porcentagem acumulada dos componentes principais e respectivos coeficientes de ponderação (autovetores) para 17 caracteres morfológicos avaliados em 19 acessos de *Sesbania* spp. Nova Odessa, 1997.

Autovalores	PRIN1	PRIN2	PRIN3	PRIN4
Variância	9,77	2,87	1,74	1,04
acumulada	57,48	74,38	84,63	90,76
Caracteres ¹	Autovetores			
IFL	0,101	0,415	0,299	-0,365
IFR	0,189	0,384	0,149	-0,342
DC	-0,195	0,279	0,288	0,323
CF	0,238	0,164	0,342	0,286
NPF	-0,080	0,490	0,127	0,387
CFOLI	0,297	-0,032	0,175	-0,050
LFOLI	0,311	-0,024	0,117	0,024
CI	-0,081	-0,340	0,503	-0,137
NFL	0,312	0,053	0,004	-0,028
CP	-0,184	-0,340	0,390	-0,047
CFL	-0,242	-0,076	0,419	-0,094
CVAG	-0,304	-0,005	0,128	0,111
LVAG	0,266	-0,126	0,106	0,171
CS	0,298	-0,151	0,079	-0,014
LS	0,303	-0,057	0,111	0,096
NSV	-0,305	0,128	-0,001	0,129
SGR	0,185	-0,186	0,021	0,559

¹ Caracteres descritos na Tabela 4.

Os caracteres número de flores (NFL), comprimento (CFOLI) e largura do folíolo (LFOLI), comprimento (CS) e largura da semente (LS) e largura da vagem (LVAG), que na Figura 11 se encontram mais próximos ao grupo dos acessos de *S. virgata*, estão positivamente correlacionados com esta espécie, contribuindo para a separação da mesma em relação às demais, o que pode ser observado na Tabela 19, representando a média dos grupos formados pela análise de agrupamento. Esses

caracteres apresentaram também maior magnitude dos autovetores no primeiro componente, da mesma forma que os caracteres comprimento da vagem (CVAG), número de sementes por vagem (NSV) e comprimento da flor (CFL), negativamente correlacionados com *S. virgata*, encontrando-se no quadrante oposto ao grupo desta espécie na Figura 11.

Figura 11. Gráfico de dispersão dos acessos de *S. emerus* (1-2), *S. exasperata* (3-6), *S. rostrata* (8), *S. sesban* (9-14), *S. tetraptera* (15) e *S. virgata* (16-22), e dos caracteres morfológicos descritos na Tabela 4. Nova Odessa, 1997.

Os caracteres comprimento da inflorescência (CI) e comprimento do pedicelo (CP) contribuíram para separar os acessos de *S. exasperata*, exceto o acesso nº 6, e a espécie *S. tetraptera* dos demais acessos e espécies. Os caracteres diâmetro do caule (DC), número de pares de folíolos (NPF) e NSV influenciaram na separação dos acessos *S. emerus* (nº 2) e *S. exasperata* (nº 6), grupos II e III da análise de agrupamento (Figura 12, Tabela 19). Observa-se a grande variação entre os dois

acessos de *S. emerus*, alocados nos grupos II e IV da análise de agrupamento, e também distantes entre si no gráfico de dispersão apresentado na Figura 11. Os mesmos diferem entre si principalmente quanto aos caracteres início do florescimento (IFL), início da frutificação (IFR), comprimento da folha (CF), DC, NPF, CS, NSV e porcentagem de sementes granadas (SGR) (Tabela 19). O mesmo se observa para o acesso nº 6 de *S. exasperata* com relação aos demais acessos desta espécie, o qual foi alocado num grupo isolado na análise de agrupamento. Este acesso encontra-se geneticamente mais próximo do acesso nº 2 de *S. emerus*, como se observa nas Figuras 11 e 12.

Figura 12. Dendrograma obtido pela análise de agrupamento para 17 caracteres morfológicos de *Sesbania* spp., utilizando distância Euclidiana e método UPGMA. Grupos: I - *S. virgata* (16-22); II - *S. emerus* (2); III - *S. exasperata* (6); IV - *S. emerus* (1); V - *S. tetraptera* (15); VI - *S. exasperata* (3-5); VII - *S. rostrata* (8) e *S. sesban* (9-10, 12, 14). Nova Odessa, 1997.

Tabela 19. Médias dos grupos obtidos através da análise de agrupamento para dados morfológicos em *Sesbania* spp. Nova Odessa, 1997.

Caráter ¹		Grupos ²						
		I	II	III	IV	V	VI	VII
IFL	(dias)	176,1	175,00	220,53	42,07	128,79	134,34	156,5
IFR	(dias)	285,5	237,38	291,86	135,13	173,93	186,38	227,8
DC	(mm)	13,37	32,68	26,20	7,37	13,67	20,84	19,06
CF	(cm)	25,90	18,86	29,17	9,45	15,90	16,37	12,11
NPF	(nº)	20,50	38,55	40,33	18,02	21,57	18,23	21,73
CFOLI	(mm)	3,93	1,24	2,55	1,37	2,38	2,20	2,12
LFOLI	(mm)	1,38	0,35	0,60	0,36	0,62	0,59	0,48
CI	(cm)	6,61	3,49	7,96	4,17	11,69	12,67	7,27
NFL	(nº)	29,89	5,24	8,89	2,72	10,24	4,23	9,42
CP	(mm)	0,59	0,57	0,78	0,71	1,49	1,86	1,00
CFL	(mm)	1,13	1,82	3,26	1,63	1,58	3,64	2,11
CVAG	(cm)	5,87	19,17	22,95	18,32	17,06	20,74	17,02
LVAG	(mm)	0,92	0,29	0,44	0,35	1,21	0,46	0,36
CS	(mm)	0,72	0,31	0,31	0,44	0,43	0,50	0,38
LS	(mm)	0,46	0,19	0,25	0,22	0,27	0,27	0,22
NSV	(nº)	4,52	39,30	35,79	26,68	21,81	26,52	28,34
SGR	(%)	92,20	96,59	63,95	86,56	97,35	85,61	69,09

¹ Caracteres descritos na Tabela 4.

² Grupos: I- *S. virgata* (16-22); II - *S. emerus* (2); III - *S. exasperata* (6) ; IV *S. emerus* (1); V - *S. tetraptera* (15); VI - *S. exasperata* (3-5); VII - *S. rostrata* (8) e *S. sesban* (9-10, 12, 14).

5.5.2 Caracteres agronômicos

A Tabela 20 apresenta as estimativas das variâncias de cada componente, a porcentagem acumulada destas estimativas e os autovetores dos quatro primeiros componentes principais obtidos a partir dos nove caracteres agronômicos avaliados. O primeiro componente concentrou 47,08% da variância total, o segundo 29,95%, o terceiro 10,68% e o quarto 6,17%. A variância acumulada pelos dois primeiros componentes foi de 77,03%, um valor relativamente alto à semelhança dos dados morfológicos. A variância acumulada pelos quatro primeiros componentes foi de 93,88%, sendo que os cinco restantes concentraram apenas 6,12% da variação total.

Tabela 20. Estimativas das variâncias (autovalores), porcentagem acumulada dos componentes principais e respectivos coeficientes de ponderação (autovetores) para 9 caracteres agronômicos avaliados em 19 acessos de *Sesbania* spp. Nova Odessa, 1997.

	PRIN1	PRIN2	PRIN3	PRIN4
Autovalores	4,24	2,70	0,96	0,55
Variância acumulada (%)	47,08	77,03	87,71	93,88
Caracteres [†]	Autovetores			
PRS	-0,300	0,337	0,127	-0,458
PMSF/D	0,413	-0,014	0,439	-0,340
PMSH/D	0,453	0,035	0,337	-0,027
PB/D	0,274	-0,290	-0,456	0,358
AR/D	0,292	0,451	-0,269	0,064
AP/D	0,324	0,431	-0,178	-0,040
AFL	-0,166	0,526	-0,314	-0,041
V	-0,144	0,358	0,516	0,733
VR	0,469	0,081	-0,027	0,021

[†] Caracteres descritos na Tabela 17.

A dispersão gráfica dos acessos e dos nove caracteres avaliados com relação aos dois primeiros componentes principais encontra-se na Figura 13. Observa-se a importância dos caracteres produção de matéria seca (MS) de folhas/dia (PMSF/D), produção de MS de hastes/dia (PMSH/D), altura da planta/dia (AP/D), altura de rebrota/dia (AR/D) e vigor de rebrota (VR) para os acessos de *S. sesban*, principalmente o acesso nº 9 (NO 934), devido justamente à sua superioridade em termos de PMSF/D, PMSH/D e VR (Tabela 21). Esses três caracteres apresentaram valores de maior magnitude nos autovetores do primeiro componente. Por outro lado, o acesso nº 1 de *S. emerus* e nº 15 de *S. tetraptera* encontram-se no lado oposto a esses caracteres na Figura 13, indicando que os mesmos apresentaram baixa PMSF/D, PMSH/D, altura da planta no florescimento (AFL), AP/D e VR. Os caracteres produção de sementes (PRS), vigor (V) e AFL estão positivamente correlacionados com os acessos das espécies anuais *S. exasperata*, exceto o nº 6, *S. emerus* (nº 2) e *S. rostrata*. O caráter porcentagem de proteína bruta/dia (PB/D) encontra-se positivamente correlacionado com os acessos de *S. virgata* e *S. exasperata* (nº 6), que apresentaram altos valores para este caráter.

Figura 13. Gráfico de dispersão dos acessos de *S. emerus* (1-2), *S. exasperata* (3-6), *S. rostrata* (8), *S. sesban* (9-14), *S. tetraptera* (15) e *S. virgata* (16-22), e dos caracteres agronômicos descritos na Tabela 17. Nova Odessa, 1997.

A análise de agrupamento separou os acessos em três grupos de espécies perenes, relacionadas à maior produção de biomassa, e três grupos com espécies anuais, que se destacaram, com exceção do grupo VI, principalmente pela maior produção de sementes. Os seis grupos obtidos foram identificados como sendo: I - *S. sesban* (9), II - *S. sesban* (10, 12, 14), III - *S. virgata* (16-22) e *S. exasperata* (6), IV - *S. emerus* (2) e *S. exasperata* (3-5), V - *S. rostrata* (8) e *S. tetraptera* (15), VI - *S. emerus* (1) (Figura 14). O grupo I foi formado pelo acesso nº 9 de *S. sesban*, classificado num grupo isolado dos demais, devido à superioridade apresentada para PMSF/D, AP/D e VR (Tabela 21). Os grupos II e III compreendem as espécies perenes *S. sesban* (acessos nº 10, 12 e 14) e *S. virgata*, apresentando maior PMSF/D, PMSH/D, PB/D e VR que as demais espécies. O grupo III (*S. virgata* e *S. exasperata*, nº 6) apresentou maior PRS e PB/D que o grupo II. Os grupos IV e V, formados pelas espécies anuais *S. emerus* (nº 2), *S. exasperata*, *S. tetraptera* e *S. rostrata*,

apresentaram maior PRS, AFL e V. O acesso nº 6 de *S. exasperata* foi incluído no grupo III junto aos acessos de *S. virgata*, pela baixa PRS apresentada, apenas 6,78g em média, bastante inferior aos valores médios 391,33; 288,65 e 186,84 obtidos pelos acessos nº 3, 4 e 5 de *S. exasperata*, respectivamente. Este acesso também apresentou alto valor de PB/D, 0,1573, em média, comparado aos valores variando de 0,10 a 0,11 para os demais acessos de *S. exasperata*, justificando a sua inclusão junto ao grupo de *S. virgata*, que apresentaram os maiores valores de PB/D.

Grupo: I II III IV V VI

Figura 14. Dendrograma obtido pela análise de agrupamento para nove caracteres agronômicos de *Sesbania*, utilizando distância Euclídeana e método UPGMA. Grupos: I - *S. sesban* (9); II - *S. sesban* (10, 12, 14); III - *S. virgata* (16-22) e *S. exasperata* (6); IV - *S. exasperata* (3-5) e *S. emerus* (2), V - *S. tetraptera* (15) e *S. rostrata* (8); VI - *S. emerus* (1). Nova Odessa, 1997.

Tabela 21. Médias dos grupos obtidos através da análise de agrupamento para dados agronômicos em *Sesbania* spp. Nova Odessa, 1997.

Caráter ¹		Grupos ²					
		I	II	III	IV	V	VI
PRS	(g)	33,83	14,79	71,87	254,55	322,02	35,87
PMSF/D	(g)	11,36	5,11	4,44	1,90	2,45	0,76
PMSH/D	(g)	4,81	2,85	2,07	0,87	0,79	0,13
PB/D	(%)	0,13	0,12	0,15	0,11	0,09	0,10
AR/D	(cm)	1,80	1,75	1,41	1,70	1,19	0,80
AP/D	(cm)	1,90	1,84	1,45	1,71	1,20	0,79
AFL	(m)	1,92	2,30	1,78	3,62	2,55	1,67
V	(notas)	3,75	4,50	3,88	4,44	4,75	4,75
VR	(notas)	4,83	4,08	3,30	2,63	1,51	1,00

¹ Caracteres descritos na Tabela 17.

² Grupos: I - *S. sesban* (9); II - *S. sesban* (10, 12, 14); III - *S. virgata* (16-22) e *S. exasperata* (6); IV - *S. exasperata* (3-5) e *S. emerus* (2); V - *S. rostrata* (8) e *S. tetraptera* (15); VI - *S. emerus* (1).

5.5.3 Descarte de variáveis

Com o objetivo de reduzir o número de caracteres a serem avaliados em trabalhos desta natureza com espécies de *Sesbania*, foi realizado o descarte de variáveis, considerando a grande quantidade de caracteres correlacionados significativamente entre si, como se observa na Tabela 22 para dados morfológicos e na Tabela 23 para dados agronômicos. Foram descartados 13 caracteres morfológicos, na seguinte ordem: LFOLI, CFOLI, LS, NFL, IFR, NSV, CS, CP, CFL, DC, CI, LVAG e SGR, promovendo uma redução de 76,5% dos 17 caracteres inicialmente considerados. Foram selecionados os caracteres CVAG, IFL, CF e NPF.

Para os dados agronômicos, foram descartados cinco caracteres, que por ordem foram: PMSH/D, AP/D, VR, AFL e PB/D, ocasionando uma redução de 55,5% dos nove caracteres avaliados. Foram selecionados os caracteres PRS, AR/D, PMSF/D e V. De acordo com o critério adotado, de descartar a variável de maior coeficiente nos componentes com autovalor menor que 0,70, o caráter V

Tabela 22. Estimativa dos coeficientes de correlação de Spearman significativos entre 17 caracteres morfológicos¹ avaliados. Nova Odessa, 1997.

	IFR	DC	CF	NPF	CFOLI	LFOLI	CI	NFL	CP	CFL	CVAG	LVAG	CS	LS	NSV	SGR
IFL	0,90 ²²			0,48 ^c					-0,55 ^c							
IFR		0,53 ^c						0,54 ^c	-0,71 ^b		-0,59 ^b			0,46 ^c	-0,49 ^c	
DC				0,67 ^b	-0,47 ^c	-0,50 ^c		-0,50 ^c	0,49 ^c	0,77 ^a	0,70 ^b	-0,53 ^c	-0,71 ^b	-0,48 ^c	0,70 ^b	
CF					0,84 ^a	0,80 ^a		0,68 ^b		-0,49 ^c		0,59 ^b	0,50 ^c	0,71 ^b	-0,53 ^c	
NPF																
CFOLI						0,95 ^a		0,82 ^a		-0,62 ^b	-0,67 ^b	0,73 ^b	0,69 ^b	0,85 ^a	-0,76 ^a	
LFOLI								0,78 ^a		-0,57 ^b	-0,68 ^b	0,79 ^a	0,76 ^a	0,88 ^a	-0,81 ^a	
CI									0,70 ^b							
NFL									-0,59 ^b	-0,77 ^a	-0,79 ^a	0,59 ^b	0,54 ^c	0,66 ^b	-0,74 ^b	
CP										0,79 ^a	0,61 ^b					
CFL											0,79 ^a	-0,55 ^c	-0,62 ^b	-0,56 ^c	0,68 ^b	-0,59 ^b
CVAG												-0,50 ^c	-0,65 ^b	-0,60 ^b	0,90 ^a	-0,48 ^c
LVAG													0,76 ^a	0,85 ^a	-0,66 ^b	0,53 ^b
CS														0,81 ^a	-0,82 ^a	0,52 ^c
LS															-0,74 ^b	0,46 ^c
NSV																-0,52 ^c

¹ Caracteres descritos na Tabela 4.

² Significativo a P<0,001 (a), P<0,01 (b) e P<0,05 (c).

Tabela 23. Estimativa dos coeficientes de correlação de Spearman significativos entre nove caracteres agronômicos¹ avaliados. Nova Odessa, 1997.

	PRS	PMSF/D	PMSH/D	PB/D	AR/D	AP/D	AFL	VR	V
PRS			-0,52 ^c					-0,60 ^b	
PMSF/D			0,93 ^{a2}					0,76 ^a	
PMSH/D				0,50 ^c				0,86 ^a	
PB/D							-0,47 ^c		
AR/D						0,91 ^a	0,56 ^c	0,53 ^c	
AP/D							0,50 ^c	0,54 ^c	
AFL									0,55 ^c
VR									

¹ Caracteres descritos na Tabela 17.

² Significativo a $P < 0,001$ (a), $P < 0,01$ (b) e $P < 0,05$ (c)

de maior autovetor no componente principal 4 deveria ter sido também descartado (Tabela 20). Optou-se, no entanto, em manter este caráter, uma vez que se recomenda que se deva manter pelo menos quatro caracteres (Mardia et al., 1979; Strapasson, 1997).

Examinando as estimativas dos coeficientes de correlação de Spearman entre os oito caracteres selecionados, quatro morfológicos e quatro agronômicos, quatro correlações se mostraram significativas, ou seja, IFL vs. NPF com $r = 0,48$ ($P < 0,05$), IFL vs. PRS com $r = -0,53$ ($P < 0,05$), IFL vs. V com $r = -0,59$ ($P < 0,01$) e CVAG vs. PMSF/D com $r = -0,63$ ($P < 0,01$). As tabelas 24 e 25 apresentam as estimativas dos coeficientes de correlação de Spearman significativos entre os caracteres selecionados e os descartados para dados morfológicos e agronômicos, respectivamente. Ambas as tabelas mostram que a metodologia utilizada para o descarte de variáveis foi bastante apropriada, uma vez que todos os caracteres descartados estão significativamente correlacionados com um ou mais dos caracteres selecionados. As únicas exceções foram observadas para os caracteres CI (Tabela 24) e PB/D (Tabela 25). Nova análise de componentes principais foi realizada incluindo-se esses dois caracteres, sem grandes diferenças observadas. Optou-se, portanto, por manter o descarte dos mesmos.

Caso novo descarte fosse realizado, os caracteres NPF, CF, AR/D e PRS seriam selecionados, sendo dois caracteres morfológicos e dois agronômicos.

Tabela 24. Estimativas dos coeficientes de correlação de Spearman significativos entre os quatro caracteres¹ morfológicos selecionados e os treze caracteres descartados. Nova Odessa, 1997.

Descartados	IFL	Selecionados		CVAG
		CF	NPF	
IFR	0,90 ^a	0,53 ^c		-0,52 ^c
DC				0,70 ^b
CFOLI		0,84 ^a		-0,67 ^b
LFOLI		0,80 ^a		-0,68 ^b
CI				
NFL		0,68 ^b		-0,79 ^a
CP	-0,55 ^c			0,61 ^b
CFL		-0,49 ^c		0,79 ^a
LVAG		0,59 ^b		-0,50 ^c
CS		0,50 ^c		-0,65 ^b
LS		0,71 ^b		-0,60 ^b
NSV		-0,53 ^c		0,90 ^a
SGR				-0,48 ^c

¹ Caracteres descritos na Tabela 4.

² Significativo a $P < 0,001$ (a), $P < 0,01$ (b) e $P < 0,05$ (c)

Tabela 25. Estimativa dos coeficientes de correlação de Spearman significativos entre os cinco caracteres¹ agrônômicos selecionados e os quatro descartados. Nova Odessa, 1997.

Descartados	PRS	Selecionados		V
		PMSF/D	AR/D	
PMSH/D	-0,52 ^c	0,93 ^a		
AFL			0,56 ^c	0,55 ^c
AP/D			0,91 ^a	
PB/D				
VR	-0,60 ^b	0,76 ^a	0,53 ^c	

¹ Caracteres descritos na Tabela 17.

² Significativo a $P < 0,001$ (a), $P < 0,01$ (b) e $P < 0,05$ (c)

A análise de agrupamento realizada com os oito caracteres selecionados (Figura 15; Tabela 26) classificou os acessos em cinco grupos: grupo I - *S. virgata* (16-22); grupo II - *S. sesban* (9, 10, 12, 14), com o acesso nº 9 num subgrupo separado dos demais; grupo III - *S. exasperata* (3-5), *S. rostrata* (8) e *S. tetraptera* (15); grupo IV - *S. exasperata* (6) e *S. emerus* (2); e grupo V - *S. emerus* (1). Esta classificação mostrou a variação interespecífica, bem como a variação intraespecífica, como no caso das espécies *S. exasperata* e *S. emerus*, com acessos alocados em grupos distintos.

Figura 15. Dendrograma obtido pela análise de agrupamento com os oito caracteres selecionados de *Sesbania*, utilizando distância Euclídeana e método UPGMA. Grupos: I - *S. virgata* (16-22); II - *S. sesban* (9, 10, 12, 14); III - *S. exasperata* (3-5), *S. rostrata* (8) e *S. tetraptera* (15); IV - *S. exasperata* (6) e *S. emerus* (2); V - *S. emerus* (1). Nova Odessa, 1997.

Tabela 26. Médias dos grupos obtidos através da análise de agrupamento para dados morfológicos e agronômicos selecionados em *Sesbania* spp. Nova Odessa, 1997.

Caráter ¹		Grupos ²				
		I	II	III	IV	V
IFL	(dias)	4,81	2,85	2,07	0,87	0,79
CF	(cm)	25,90	11,24	16,12	24,02	9,45
NPF	(nº)	20,50	21,52	19,77	39,44	18,02
CVAG	(cm)	5,87	15,81	20,23	21,06	18,32
PRS	(g)	81,16	19,55	302,17	79,12	35,87
PMSF/D	(g)	4,85	6,67	2,34	1,18	0,76
AR/D	(cm)	1,39	1,76	1,47	1,66	0,80
V	(notas)	3,86	4,31	4,55	4,25	4,75

¹ Caracteres descritos na Tabela 17.

² Grupos: I - *S. virgata* (16-22); II - *S. sesban* (9-10, 12, 14); III - *S. exasperata* (3-5), *S. rostrata* (8) e *S. tetraptera* (15); IV - *S. emerus* (2) e *S. exasperata* (6); V - *S. emerus* (1).

5.6 Discussão

As análises de agrupamento e componentes principais com dados morfológicos e agronômicos de espécies de *Sesbania* revelaram a existência de variabilidade genética tanto inter como intraespecífica, bem como as diferenças entre espécies anuais e perenes, e entre espécies de diferentes subgêneros. O subgênero *Daubentonia*, representado pela espécie *S. virgata*, se destacou dos demais nas análises com dados morfológicos, devido principalmente aos caracteres positivamente correlacionados com o mesmo comprimento e largura do folíolo, número de flores, largura da vagem, comprimento e largura da semente, e aos caracteres negativamente correlacionados comprimento da vagem, comprimento da flor e número de sementes por vagem (Figura 11). O subgênero *Daubentonia* é nativo das Américas e, segundo Monteiro (1984), deve ter surgido por evolução a partir de espécies do subgênero *Sesbania* que se estabeleceram no Novo Mundo ou por dispersão a longa distância ou por migração através de pontes intercontinentais formadas antes da separação dos continentes. Esta teoria foi corroborada por Forni-Martins et al. (1994), que observaram

cariótipos mais simétricos para as espécies *S. sesban* e *S. exasperata*, ambas do subgênero *Sesbania*, o que é aceito como condição primitiva (Stebbins, 1971). Os cromossomos das espécies *S. virgata* e *S. punicea*, subgên. *Daubentonia*, mostraram-se mais curtos e mais submetacêntricos que os demais subgêneros (Forni-Martins et al., 1994).

Sesbania tetraptera, única espécie representante do subgênero *Pterossesbania* e nativa da África (Monteiro, 1984), foi classificada em um grupo distinto das demais espécies na análise com dados morfológicos (Figura 11), sendo que a diferenciação ocorreu devido unicamente ao caráter largura da vagem (Tabela 19). Esta observação concorda com Monteiro (1984), que afirma que o único caráter que diferencia *S. tetraptera* das espécies do subgênero *Sesbania* é o fruto que consiste de vagens aladas. De fato, esta espécie encontra-se incluída no grande grupo que contém as demais espécies do subgênero *Sesbania* (Figura 12). Na análise cariotípica realizada por Forni-Martins et al. (1994), *S. tetraptera* foi a espécie que apresentou os maiores cromossomos e a única com dois pares de cromossomos com satélite. Com relação aos dados agronômicos, esta espécie apresentou alta produção de sementes e alta produção de matéria seca de folhas no primeiro corte, à semelhança das demais espécies anuais, e também um baixo vigor de rebrota (Tabela 21), compartilhado pelas espécies anuais *S. rostrata* e *S. emerus* (nº 1).

A variabilidade intraespecífica ficou evidente para *S. emerus*, *S. exasperata* e *S. sesban*, todas pertencentes ao subgênero *Sesbania*. Os dois acessos avaliados de *S. emerus* diferiram com relação a diversos caracteres (Tabelas 19 e 21), razão pela qual foram classificados em grupos distintos nas análises com dados morfológicos e agronômicos (Figuras 12 e 14), e com os oito caracteres selecionados (Figura 15). Em vista de tão grande diferenciação, é de se suspeitar que esses acessos pudessem pertencer a espécies diferentes. No entanto, o padrão de bandas obtido com dados de isoenzimas em um experimento paralelo a este (item 6), foi bastante semelhante para os dois acessos, confirmando a identificação de ambos como pertencentes à espécie *S. emerus*.

O acesso nº 6 de *S. exasperata* também foi classificado em grupos diferentes dos demais acessos desta espécie tanto para dados morfológicos como agronômicos. Este acesso apresentou baixa produção de sementes em comparação com os demais acessos de *S. exasperata*, apresentando maior similaridade genética

com o acesso nº 2 de *S. emerus*, devido principalmente aos caracteres diâmetro do caule (DC), número de pares de folíolos (NPF) e número de sementes por vagem (NSV) (Figura 11). Este acesso também foi alocado num grupo separado na análise de agrupamento realizada com dados de isoenzimas, considerando presença e ausência de bandas, apresentada no item 6.

Quanto à *S. sesban*, a variabilidade intraespecífica foi evidenciada para os dados agronômicos, com o acesso nº 9 (NO 934) tendo sido classificado num grupo isolado, principalmente devido aos caracteres produção de matéria seca de folhas e hastes, e vigor de rebrota, positivamente correlacionados com este acesso (Figuras 13 e 14). Este acesso também foi incluído num subgrupo, dentro do grupo que classificou os acessos de *S. sesban* segundo o padrão eletroforético de bandas de isoenzimas (a ser discutido no item 6) e num grupo separado na análise de agrupamento com dados de plântulas (item 3). Variação para produção de MS de folhas e hastes entre acessos de *S. sesban* foi também observada por diversos autores (Karachi et al., 1994; Heering, 1995; Gutteridge et al., 1995; Veasey et al., 1995; Heering et al., 1996b), evidenciando a existência de variabilidade genética e possibilidade de seleção de acessos mais produtivos desta espécie.

Diferenças entre espécies anuais e perenes foram evidenciadas principalmente com relação aos caracteres agronômicos, com a diferenciação dos grupos ocorrendo em grande parte devido à produção de sementes, que foi bem maior para as espécies anuais. Já os caracteres produção de matéria seca de folhas e hastes e vigor de rebrota foram mais elevados para as espécies perenes *S. sesban* e *S. virgata*. Tais resultados confirmam a teoria de seleção *r* e seleção *k* (MacArthur & Wilson, 1967), a qual preconiza que populações de ciclo de vida mais curto, maturidade sexual precoce e sujeitos a ambientes hostis, possuem esforço reprodutivo maior que populações perenes, tardias, e aquelas sujeitas a ambientes mais estáveis. Reis (1984) observou que as espécies perenes de *Stylosanthes* (*S. guianensis*, *S. hamata* e *S. scabra*) se comportaram como estrategistas *k*, ao contrário da espécie anual *S. humilis*, que se comportou como estrategista *r*, alocando maior fração de recursos à reprodução, ou seja, à produção de sementes e à produção de brácteas e flores. No presente estudo, pode-se concluir que as espécies anuais também se comportaram como estrategistas *r* e as perenes como estrategistas *k*, destinando maior energia à produção de biomassa e menos energia à reprodução.

Das espécies perenes, as mais conhecidas e utilizadas na agricultura são *S. sesban* e *S. grandiflora* (Gutteridge, 1994). O único acesso de *S. grandiflora* avaliado neste experimento não se mostrou promissor para esta região, pelo contrário, já que apresentou crescimento inicial mais lento, maior susceptibilidade ao ataque de curculionídeos, e não chegou a florescer nem frutificar. Daniel (1996) também observou um lento desenvolvimento inicial para *S. grandiflora*. Esta espécie difere das demais avaliadas neste estudo pelo fato de ser tetraplóide, com $2n = 24$ cromossomos (Bairiganjan & Patnaik, 1989). As demais espécies são consideradas diplóides, com $2n = 12$ cromossomos (Monteiro, 1984; Fomi-Martins et al., 1994).

Os acessos de *S. sesban*, bem como os de *S. virgata*, também tiveram suas produções do terceiro e quarto corte prejudicadas pelo ataque maciço de um curculionídeo, identificado como *Eudiagogus episcopalis* (Figura 16A), (ordem Coleoptera, família Curculionidae) (Warner, 1979), reduzindo bastante o potencial produtivo devido à intensa desfoliação produzida. Tal ocorrência indica que o cultivo dessas espécies na região em estudo deverá ser realizado com cautela, já que novos ataques deste gorgulho poderão existir, limitando a produção de forragem. O plantio de *S. sesban* em fileiras, consorciada com gramíneas, provocando a diversificação do meio ambiente, poderia talvez minimizar este problema. A ocorrência de outra praga identificada como *Epicauta atomaria* (ordem Coleoptera, família Meloidae) (Figura 16B) também foi observada, principalmente nos acessos de *S. virgata*, mas com ataque de menor intensidade. Foi também observada a presença de antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum*, nos ramos dos acessos de *S. sesban*, mas em baixa intensidade e sem aparentemente afetar a produção.

A presença de mamangaba e outros insetos polinizadores, como a abelha melífera (*Apis mellifera*), também foi observada em grande intensidade na época do florescimento das espécies de *Sesbania* (Figura 16C e 16D), sugerindo que essas espécies se reproduzem, pelo menos em parte, por polinização cruzada. Segundo Heering (1994), as sesbanias são polinizadas por muitas espécies tropicais de abelhas, tendo por polinizador comum o gênero *Xylocopa* (abelha carpinteira), bem como a abelha melífera e as abelhas *Megachile bituberculata* e *Chalicodoma* sp.

Figura 16. A) *Eudiagogus episcopalidis*; B) *Epicauta atomaria*; C) e D) *Apis mellifera* visitando flores de *Sesbania sesban*.

Agentes polinizadores aumentam a taxa de cruzamento em *Sesbania*. Nova Odessa, 1997.

Com relação ao descarte de caracteres, de acordo com a metodologia de Jolliffe (1972, 1973), observou-se redução de 76,5% dos caracteres morfológicos e 55,5% dos caracteres agronômicos. O descarte foi apropriado se considerarmos que todos aqueles descartados, exceto o morfológico CI e o agronômico PB/D, estavam significativamente correlacionados com os caracteres selecionados (Tabelas 24 e 25). A correlação entre caracteres resulta em caracteres redundantes que, além de pouco informativos, contribuem para complicar a análise dos dados e não apresentam informação adicional (Strapasson, 1997). Além disso, o descarte de caracteres redundantes propicia a redução de mão-de-obra, tempo e custo (Cruz & Regazzi, 1994). Santos et al. (1995) reduziram a lista de caracteres inicialmente avaliados em guandu (*Cajanus cajan*) de 20 para apenas sete caracteres considerados como discriminantes dos acessos. Daher et al. (1997) selecionaram oito caracteres, de um total de 22, como sendo os mais importantes para a determinação da divergência genética entre acessos de capim-elefante. Heering et al. (1996a) reduziram de 18 para 14 caracteres morfológicos avaliados em *Sesbania sesban*, baseado na correlação significativa entre as variáveis.

No presente estudo, de um total de 26 caracteres morfológicos e agronômicos, foram selecionados oito caracteres. Os caracteres morfológicos selecionados foram comprimento da vagem, início de florescimento, comprimento da folha e número de pares de folíolos. É interessante observar que os caracteres comprimento da vagem e número de pares de folíolos por folha foram também importantes na discriminação dos grupos formados entre 108 acessos de *S. sesban* (Heering et al., 1996a), além de outros caracteres como tamanho do folíolo e tamanho da flor. Entre os caracteres agronômicos, foram selecionados caracteres importantes do ponto de vista forrageiro, tais como produção de MS de folhas, produção de sementes, vigor e altura de rebrota. A produção de sementes é importante, pois implica na regeneração natural do acesso ou cultivar na pastagem ou banco de proteína, além de facilitar a multiplicação do material. Além disso, uma alta produção de sementes deve vir associada à produção de biomassa, que conseqüentemente estaria relacionada ao vigor de rebrota, refletindo na altura de rebrota avaliada antes de cada corte.

Portanto, foram selecionados caracteres importantes tanto do ponto de vista taxonômico, como do ponto de vista agrônomo. A análise de agrupamento realizada com os oito caracteres selecionados classificou os acessos em cinco grupos (Figura 15), bastante condizentes com o que foi observado anteriormente para as análises realizadas separadamente com dados morfológicos e agrônomo. O grupo I, formado pelos acessos de *S. virgata*, do subgênero *Daubentonia* (Monteiro, 1984), foi separado dos demais devido ao menor comprimento da vagem (Tabela 26). O grupo II formado pelos acessos de *S. sesban* apresentou menor comprimento da folha, sendo que o acesso nº 9 foi alocado num subgrupo à parte pela maior produção de MS de folhas. O grupo III, formado pelos acessos das espécies anuais *S. exasperata*, *S. tetraptera* e *S. rostrata* foi separado dos demais pela maior produção de sementes apresentada. O grupo IV classificou juntos os acessos nº 6 de *S. exasperata* e nº 2 de *S. emerus*, devido ao maior número de pares de folíolos apresentado por ambos. A maior similaridade genética entre esses dois acessos já havia sido detectada nas análises anteriores. Finalmente, o grupo V foi formado pelo acesso nº 1 de *S. emerus*, por apresentar maior precocidade e menor altura de rebrota.

Fica bem evidenciado, portanto, a partir da análise de agrupamento com os dados selecionados, a variabilidade genética inter e intraespecífica, as diferenças entre espécies anuais e perenes, bem como entre espécies de diferentes subgêneros. Pode-se concluir que os oito caracteres selecionados são importantes e úteis para a discriminação de acessos e espécies de *Sesbania* spp.

6 VARIABILIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE ESPÉCIES DE *Sesbania* Scop.

IV. CARACTERIZAÇÃO BASEADA NA ANÁLISE DE ISOENZIMAS

6.1 Resumo

A variação isoenzimática foi avaliada entre e dentro de sete espécies de *Sesbania* Scop. (*S. emerus*, *S. exasperata*, *S. grandiflora*, *S. rostrata*, *S. sesban*, *S. tetraptera* e *S. virgata*), num total de 22 acessos. Foram utilizados oito sistemas isoenzimáticos, dois sistemas de tampão gel/eletrodo, água destilada como tampão de extração e cotilédones para a extração das enzimas. Devido à dificuldade em se interpretar os zimogramas em termos de locos e alelos, comparou-se os acessos em termos de presença/ausência de bandas para cada sistema isoenzimático, obtendo-se um dendrograma utilizando o índice de similaridade de Jaccard e o método UPGMA, classificando as espécies em grupos distintos e mostrando a variabilidade intraespecífica. Padrões de bandas isoenzimáticas para as espécies de *Sesbania* foram apresentados para cada sistema utilizado. De modo geral, observou-se grande incidência de monomorfismo intraespecífico. A interpretação em termos de locos e alelos foi realizada para acessos e progênies das espécies *S. sesban* e *S. virgata*, que apresentaram polimorfismo para os sistemas fosfoglucoase isomerase (PGI), glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT) (*S. sesban*) e malato desidrogenase (MDH) (*S. virgata*). O número médio de alelos por loco polimórfico foi dois para ambas as espécies, e a porcentagem de locos polimórficos foi 60% para o acesso nº 14 de *S. sesban*, 20% para os demais, e 33,33% para *S. virgata*. As estimativas das heterozigosidades médias esperadas variaram de 0,0 a 0,232 para *S. sesban* e de 0,0 a 0,200 para *S. virgata*. Índices de fixação intrapopulacionais negativos e próximos de um revelaram excesso de heterozigotos para dois acessos de *S. sesban* e provável efeito de seleção. O acesso nº 14 apresentou alto polimorfismo, mostrando-se em

equilíbrio de Hardy-Weinberg. Foram estimados os índices de diversidade de Nei (H_T , H_S , G_{ST}), mostrando que 62,6 e 69,3% da variabilidade genética total é atribuída à diferença entre acessos de *S. sesban* e *S. virgata*, respectivamente.

GENETIC VARIABILITY IN ACCESSIONS OF *Sesbania* Scop. SPECIES

IV. CHARACTERIZATION BASED ON ISOZYME ANALYSES

6.2 Summary

Isozyme variation was evaluated among as well as within seven species of *Sesbania* Scop. (*S. emerus*, *S. exasperata*, *S. grandiflora*, *S. rostrata*, *S. sesban*, *S. tetraptera* and *S. virgata*), in a total of 22 accessions. Eight isozyme systems, two gel/electrode buffers, distilled water as the extraction buffer and cotyledons for enzyme extraction were used. Due to the difficulty in interpreting the zymograms in terms of loci and alleles, the accessions were compared in terms of presence/absence of bands for each isozyme system, constructing a dendrogram using the Jaccard similarity index and the UPGMA method, classifying the species in distinct groups and showing intraspecific variability. Patterns of isozyme bands for each system were presented for *Sesbania* species. A high incidence of intraspecific monomorphism was observed. The interpretation in terms of loci and alleles was performed for accessions and progenies of *S. sesban* and *S. virgata*, which presented polymorphism for the systems phosphoglucose isomerase (PGI), glutamate dehydrogenase (GOT) (*S. sesban*) and malate dehydrogenase (MDH) (*S. virgata*). The mean number of alleles per polymorphic locus was two for both species, and the percentage of polymorphic loci was 60% for accession nº 14 and 20% for the other accessions of *S. sesban*. The average expected heterozygosity estimates varied from 0.0 to 0.232 for *S. sesban* and from 0.0 to 0.200 for *S. virgata*. Intrapopulational fixation indexes negative and close to one revealed excess of heterozygotes for two accessions of *S. sesban* and, probably, a selection effect. Accession nº 14 presented high polymorphism, showing Hardy-Weinberg equilibrium. The diversity indexes of Nei (H_T , H_S , G_{ST}) were estimated, showing that 62,6 and 69,3% of the total genetic variability is attributed to the difference among accessions of *S. sesban* and *S. virgata*, respectively.

6.3 Introdução

A variabilidade genética entre e dentro de espécies e populações pode ser caracterizada através de dados morfológicos e agronômicos de plantas individualizadas a nível de campo ou casa-de-vegetação. Essas avaliações, no entanto, podem ser complementadas por um estudo mais direto da expressão genotípica através da eletroforese de isoenzimas (Simpson & Withers, 1986; Soltis & Soltis, 1990).

A análise de isoenzimas tem sido empregada para a identificação de cultivares e espécies e para estudos genéticos em diversos gêneros e espécies de leguminosas forrageiras, entre os quais *Aeschynomene* (Carulli & Fairbrothers, 1988), *Centrosema* (Penteado et al., 1997), *Desmodium* (Chow & Crowder, 1974), *Leucaena* (Harris et al., 1994; Chamberlain et al., 1996), *Stylosanthes* (Marcon, 1988; Lovato & Martins, 1997). Marcon (1988) concluiu que o polimorfismo isoenzimático observado é função da variação ambiental avaliando diversas populações de *Stylosanthes humilis* coletadas em diferentes condições ambientais do Estado de Pernambuco. Correlações entre tolerância salina e frequências alélicas em seis populações de *Stylosanthes humilis* foram estabelecidas por Lovato & Martins (1997), utilizando os sistemas isoenzimáticos esterase e peroxidase. Penteado et al. (1997) observaram alto polimorfismo e variabilidade genética entre e dentro de espécies e populações de *Centrosema*, avaliando 17 locos isoenzimáticos, obtendo padrões isoenzimáticos muito eficientes para a discriminação das espécies estudadas.

A análise de três sistemas isoenzimáticos entre e dentro de 24 populações de *Leucaena leucocephala* detectou altos níveis de variabilidade intraespecífica (Harris et al., 1994), possibilitando além disso a diferenciação por padrões multi-enzimáticos das duas subespécies, ssp. *leucocephala* e ssp. *glabrata*. A variação genética dentro e as relações entre quatro taxa que compreendem o complexo *Leucaena shannonii* foram avaliadas por Chamberlain et al. (1996) com seis sistemas isoenzimáticos.

Poucos estudos foram realizados até a presente data com relação a padrões eletroforéticos para a identificação de espécies e acessos de *Sesbania*, da família Leguminosae, tribo Robinieae, que apresenta 60 espécies distribuídas nos trópicos e subtropicos (Evans, 1990). Este gênero apresenta espécies anuais e

perenes de grande potencial para fixação de nitrogênio, recuperação de solos, uso como forrageira e em sistemas agroflorestais (Ndoye et al., 1990). Saraswati et al. (1993) avaliaram 17 espécies de *Sesbania* por padrões eletroforéticos utilizando proteína da semente e a técnica SDS-PAGE (dodecylsulfato de sódio - gel de poliacrilamida), obtendo padrões específicos de proteína para 15 espécies. Os autores discutem as relações entre as espécies baseado nos padrões eletroforéticos observados. Em estudos mais recentes, diferentes acessos das espécies *S. sesban* e *S. goetzei* foram avaliados através de padrões de cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) (Plumb et al., 1996; Heering et al., 1996c). Diferenças significativas ($P < 0,001$) foram obtidas entre 103 acessos de *S. sesban* para concentrações de fenóis solúveis e de proantocianidina insolúvel (Heering et al., 1996c). Este estudo mostrou que os acessos podem ser agrupados de acordo com os seus padrões de cromatografia HPLC.

O presente estudo teve como objetivo caracterizar, através da análise de isoenzimas, os padrões eletroforéticos e a variabilidade genética inter e intraespecífica de sete espécies de *Sesbania*, de ciclo perene e anual, pertencentes a diferentes subgêneros, complementando um estudo de caracterização da variabilidade genética baseada em dados morfológicos e agronômicos.

6.4 Material e métodos

Foram avaliadas sete espécies de *Sesbania*, num total de 22 acessos, discriminados na Tabela 3, representando quatro subgêneros diferentes que, originalmente, apresentam áreas de ocorrência distintas: subgênero *Sesbania* (*S. emerus*, *S. exasperata*, *S. sesban*, *S. rostrata*), originário do Velho Mundo e posteriormente disperso no Novo Mundo; subgên. *Daubentonia* (*S. virgata*), originário das Américas; subgên. *Agati* (*S. grandiflora*, tetraplóide), originário da Austrália e Ásia; e subgên. *Pterosesbania* (*S. tetraptera*), originário da África (Monteiro, 1984).

O número de genótipos (plantas individuais) avaliado por acesso variou de 12 a 16, com duas ou mais repetições para cada genótipo, obtendo-se um total de 24 a 46 amostras por acesso. Testes de progênie foram realizados para dois acessos polimórficos de *S. sesban* (NO 2419 e NO 2567) e um de *S. virgata* (NO 2565),

avaliando-se 20 indivíduos (sementes) de cada planta (progênie), num total de 16 a 17 progênies/acesso.

As análises eletroforéticas foram conduzidas no Laboratório de Genética Ecológica da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/USP, em Piracicaba, SP. As sementes foram obtidas de plantas de um experimento ao nível de campo, em blocos ao acaso, conduzido no Instituto de Zootecnia em Nova Odessa, SP, com 22°42'Sul de latitude, 47°18'Oeste de longitude e 550m de altitude, no período de outubro de 1994 a março de 1997.

6.4.1 Definição do protocolo para análise de isoenzimas em *Sesbania* spp.

6.4.1.1 Tecido para extração de enzimas

Para a extração das enzimas foram testados inicialmente diversos tecidos, tais como raízes, sementes embebidas, cotilédones, folhas jovens de plântulas em casa-de-vegetação e de plantas adultas no campo, e folhas adultas. Optou-se pelo uso de cotilédones recém-emergidos coletados 6 a 15 dias após a germinação das sementes, dependendo da espécie e da época do ano, considerando que o crescimento no verão é mais rápido que no inverno. As sementes foram escarificadas com uso de estilete, pinçando-se a semente em região oposta ao embrião, e semeadas em bandejas de isopor de 67 x 34cm, contendo substrato à base de vermiculita e areia, em casa-de-vegetação.

6.4.1.2 Preparo do gel de amido

Foram testadas várias combinações da mistura de dois tipos de amido: amido de milho (Penetrose 30) (Val et al., 1981) e amido de batata (Sigma), ou somente a Penetrose 30 para o preparo do gel de amido horizontal, obtendo-se a melhor resolução de bandas com o gel de amido a 12% com duas partes de Penetrose 30 e uma de amido Sigma. O gel foi preparado através de fervura de $\frac{3}{4}$ do tampão do gel em forno microondas, juntando-se o mesmo ao amido já dissolvido no restante do tampão do gel, agitando vigorosamente e levando a suspensão novamente ao forno microondas, agitando a cada 20 segundos, até atingir a fervura, despejando-se em seguida nos moldes para o gel previamente preparados. Após o resfriamento do gel a temperatura ambiente, o mesmo era colocado em geladeira (10°C) até o seu uso na

manhã seguinte ao preparo do gel.

6.4.1.3 Sistemas-tampão gel/eletrodo, sistemas isoenzimáticos e tampão de extração

Quatro sistemas-tampão gel/eletrodo foram testados para *Sesbania* spp.: Tris-Citrato (TC), pH 7,5 (Soltis et al., 1983), Lítio-Borato (LB), pH 8,3 (Wendel & Weeden, 1990), Citrato-Morfolina (CM), pH 6,1 (Wendel & Weeden, 1990) e Histidina (H), pH 6,0 (Alfenas et al., 1991). Decidiu-se por utilizar os tampões TC e LB, por apresentarem melhor resolução de bandas nos sistemas utilizados.

Foram testados inicialmente 15 sistemas isoenzimáticos, conforme descritos na Tabela 27. Oito destes sistemas foram selecionados (Tabela 28) por apresentarem melhor resolução de bandas e presença de polimorfismos.

Quanto ao tampão de extração, foram testados vários tampões, optando-se pelo uso de água destilada, pela economicidade, a não toxicidade, e por apresentar resultados idênticos aos tampões mais complexos avaliados. O uso de mercaptoetanol não se mostrou necessário para as espécies de *Sesbania* avaliadas.

6.4.1.4 Procedimentos para extração de enzimas e corrida eletroforética

Um ou dois cotilédones, dependendo da espécie (um cotilédone para *S. virgata*, de maior tamanho, e dois para as demais), coletados no início do dia, eram macerados com 2 a 3 gotas de água destilada e com auxílio de um bastão de vidro, sobre placas de acrílico resfriadas, mantidas sobre formas de gelo durante o processo de extração. Rodelas de papel de filtro comum de 13 mm de diâmetro eram colocadas sobre os extratos de cada amostra para absorver o excesso de material. Em seguida eram colocadas, sobre as rodelas, tiras de papel de filtro Whatman nº 3, de 4 a 8 mm, absorvendo o extrato livre de impurezas. Essas tiras eram inseridas no gel lado a lado, colocando-se no máximo 20 amostras por gel. Nas duas extremidades do gel, eram adicionadas tiras de papel de filtro (Whatman nº 3) embebidas em solução de azul de bromofenol a 0,1%, para marcação da linha frontal durante a migração.

Tabela 27. Relação dos sistemas isoenzimáticos testados em espécies de *Sesbania*. Piracicaba, 1997.

Nome da enzima	Sigla	Referência	
		(EC)	Tampão ¹
Fosfatase ácida	ACP	3.1.3.2	TC
Malato desidrogenase	MDH	1.1.1.37	CM
Esterase	EST	3.1.1.1	LB
Fosfatase alcalina	ALP	3.3.3.1	TC
Álcool desidrogenase	ADH	1.1.1.1	H ²
Glucose 6-fosfato desidrogenase	G6PDH	1.1.1.49	H
Fosfoglucomutase	PGM	2.7.5.1	TC
Fosfoglucose isomerase	PGI	5.3.1.9	LB
Glutamato- oxaloacetato transaminase	GOT	2.6.1.1	LB
Catalase	CAT	1.11.1.6	LB
Peroxidase	PRX	1.11.1.7	LB
Glutamato desidrogenase	GDH	1.4.1.3	TC ²
Leucina aminopeptidase	LAP	3.4.11.1	TC
Isocitrato desidrogenase	IDH	1.1.1.42	CM
Xiquimato desidrogenase	SKDH	1.1.1.25	TC

¹ Tampão de melhor resolução

² Resolução fraca.

Durante a migração, os géis eram mantidos à temperatura de aproximadamente 6°C, com corrente constante (25mA durante os primeiros 30 minutos e 35 a 40 mA no restante da corrida). Para o tampão TC, a voltagem inicial variava de 60 a 80V, passando de 90 a 100V com corrente de 40mA, enquanto que para o tampão LB, a voltagem inicialmente variava de 120 a 180V, passando de 250 a 300V com corrente de 40mA. O tempo de corrida era aproximadamente 6 horas para o tampão TC e 7 horas para o tampão LB, interrompendo-se a corrida quando o marcador de bromofenol atingia cerca de 8 a 9 cm de migração. Após o término da migração, os géis eram cortados em 6 fatias de 2mm de espessura. As duas fatias superiores eram descartadas, de modo que apenas as quatro restantes eram empregadas para a coloração. No tampão TC, a ordem dos sistemas utilizados da primeira (superior) à última (inferior) fatia utilizada era: MDH, ACP, IDH, PGM. No tampão LB, esta mesma ordem era: GOT, PRX, CAT, PGI.

Tabela 28. Métodos de coloração empregados na revelação de isoenzimas em gel de amido em espécies de *Sesbania*.
Piracicaba, 1997.

Sistemas	ACP	IDH	MDH	PGM	PGI	GOT	PRX	CAT
Tampão gel/eletrodo	TC	TC	TC	TC	LB	LB	LB	LB
Tampão de coloração	Acetato de sódio 0,1M - pH 5,0 (50ml)	TRIS-HCL 0,1M pH 8,0 (50ml)	Tris/Ácido málico pH 7,0 (50ml)	TRIS-HCL 0,1M - pH 8,5 (50ml)	TRIS-HCL 0,1M - pH 8,0 (50ml)	Tamp. C ¹ (8ml) Tamp. D ² (42ml)	T. Fosfato pH 6,0 (14ml) Álcool 95 (35ml)	Água destilada (50ml)
Substrato	α -naftil fosfato ác. sódio (50mg)	Ácido isocítrico (100mg)	Tamp. Tris/ác málico pH 7,0 (50ml)	Glucose-1- fosfato (125mg)	Frutose-6- fosfato (37,5mg)	Piridoxal-5- fosfato (10mg) ³	Ortodianisi- dina (70mg)	Iodeto de potássio (500mg)
Catalisador MgCl ₂ (1%)	0,5ml	1ml	-	1ml	1ml	-	-	Ác. acético (0,5ml)
Cofator	-	NADP (10mg)	NAD (33mg)	NADP (10mg)	NADP (10mg)	-	H ₂ O ₂ (1%)	H ₂ O ₂ (0,5%)
G-6-PD	-	-	-	20 unid.	10 unid.	-	-	-
MTT	Fast Gamet GBC (50mg)	10mg	12,5mg	10mg	10mg	Fast Blue BB (150mg)	-	-
PMS	-	1mg	1,5mg	1mg	1mg	-	-	-
Referência	Alfenas et al. (1991)	Alfenas et al. (1991)	Brewer & Sing (1970)	Alfenas et al. (1991)	Alfenas et al. (1991)	Alfenas et al. (1991)	Brewbaker et al. (1968)	Scandalios (1965)

¹ Tampão C: Fosfato monossódico (27,6g) + água destilada (1l).

² Tampão D: Fosfato bissódico (53,63g) + água destilada (1l).

³ Ácido L-aspartico (226mg) e Ácido α -cetoglutárico (36,5mg)

6.4.2 Análise dos dados

Valores R_f (distância percorrida pela banda com relação à distância percorrida pela linha frontal do azul-de-bromofenol) foram obtidos para um total de 88 bandas, considerando-se as sete espécies e os 22 acessos avaliados. Foi realizada uma análise de agrupamento com dados de presença ou ausência de bandas obtidas com os oito sistemas isoenzimáticos, pela dificuldade em se interpretar os zimogramas em termos de locos e alelos para a maioria dos sistemas, empregando o índice de Jaccard (Jain & Singh, 1979) como medida de similaridade, e o método UPGMA (unweighed pair group method with arithmetic average) (Cruz & Regazzi, 1994), utilizando o programa Statistica for Windows Versão 5.1 (Stat Soft, 1996).

A interpretação em termos de locos e alelos foi realizada para os acessos e progênies das espécies *S. sesban* (PGI e GOT) e *S. virgata* (MDH). Foram obtidas frequências alélicas e genotípicas para cada loco, número médio de alelos por loco polimórfico, porcentagem de locos polimórficos, heterozigosidades médias observadas (H_o) e esperadas (H_e), e índice de fixação intrapopulacional, medido pelo coeficiente f de Wright (Wright, 1978). O modelo de equilíbrio de Hardy-Weinberg foi verificado pelo método de Fisher, utilizando o programa GENEPOP (Versão 1.2) (Raymond & Rousset, 1995), utilizado também para o cálculo das frequências alélicas e genotípicas. As heterozigosidades observadas (H_o) e esperadas (H_e) para cada loco foram obtidas pelas fórmulas:

$$H_o = 1 - \sum P_{ii}; \quad (1)$$

$$H_e = 2n(1 - \sum p_i^2) / (2n - 1); \quad (\text{Nei, 1978}) \quad (2)$$

Onde: P_{ii} = frequência genotípica dos genótipos homozigotos; p_i = frequência alélica; n = número de indivíduos amostrados. As heterozigosidades médias observadas e esperadas foram obtidas pelas médias aritméticas entre os locos estudados. Os índices de fixação intrapopulacionais foram estimados como desvios da heterozigosidade média esperada, ou seja:

$$\hat{f} = (\hat{H}_e - \hat{H}_o) / \hat{H}_e \quad (3)$$

Valores positivos de f indicam excesso de homozigotos, enquanto que valores negativos indicam excesso de heterozigotos. A taxa de cruzamento aparente (t_a) foi obtida a partir das estimativas do coeficiente de endogamia (f), empregando-se a relação proposta por Wright (1921) entre a taxa de cruzamento e a endogamia, ou seja:

$$\hat{f} = (1 - \hat{t}_a) / (1 + \hat{t}_a), \text{ onde } \hat{f} = 1 - \hat{H}_e / \hat{H}_o \quad (4)$$

$$\text{Portanto, } \hat{t}_a = (1 - \hat{f}) / (1 + \hat{f}). \quad (5)$$

A diversidade genética do material foi avaliada pelos índices de Nei (Nei, 1973), estimando-se os valores H_T (diversidade total da espécie), H_S (componente da diversidade dentro de populações) e G_{ST} (proporção da diversidade genética atribuída ao componente entre populações) (Alfenas et al., 1991), utilizando-se para tanto o programa DISPAN (Kumar et al., 1993).

6.5 Resultados

O padrão de bandas observado por acesso/espécie e por sistema isoenzimático encontra-se esquematizado nos zimogramas das Figura 17 e 18. Observou-se, de modo geral, alto nível de monomorfismo para os acessos avaliados dentro de cada espécie, excetuando-se os sistemas PGI e GOT para *Sesbania sesban* e MDH para *S. virgata*, os quais mostraram-se altamente polimórficos para alguns acessos. Foi observado polimorfismo também para outros sistemas e espécies, como o sistema ACP para *S. exasperata* e *S. rostrata*, PGM para *S. emerus* e *S. rostrata*, mas em níveis muito baixos, apenas 3 a 4%.

O sistema enzimático fosfoglucomutase (PGM), considerado monomérico (Weeden & Wendel, 1990), apresentou, de modo geral, duas regiões de atividade (ou locos), com a região de maior mobilidade relativa (Rf) com duas bandas e a de menor Rf com uma banda, exceto o acesso nº 6 de *S. exasperata*, e o acesso nº 7 de *S. grandiflora*, com diferentes padrões de bandas para a região de menor Rf. *S. tetraptera* (nº 15) apresentou apenas uma banda para a região de maior Rf e *S. rostrata* (nº 8) não apresentou bandas na região de menor Rf (Figura 17).

Figura 17. Ilustração esquemática dos zimogramas dos sistemas PGM, PGI, GOT e MDH, para *S. emerus* (1-2), *S. exasperata* (3-6), *S. grandiflora* (7), *S. rostrata* (8), *S. sesban* (9-14), *S. tetraptera* (15), e *S. virgata* (16-22). Piracicaba, 1997.

Figura 18. Ilustração esquemática dos zimogramas dos sistemas ACP, IDH, PRX e CAT, para *S. emerus* (1-2), *S. exasperata* (3-6), *S. grandiflora* (7), *S. rostrata* (8), *S. sesban* (9-14), *S. tetraptera* (15), e *S. virgata* (16-22). Piracicaba, 1997.

O sistema fosfoglucoase isomerase (PGI), considerado dimérico na literatura, também apresentou duas regiões de atividade, sendo a primeira região de maior Rf com uma banda e a segunda, de menor Rf, com uma a três bandas, exceto *S. tetraptera* com cinco bandas nesta região. *S. grandiflora* apresentou quatro regiões de atividade, diferenciando-a das demais espécies (Figura 17). *S. sesban* apresentou polimorfismo para a segunda região de atividade ou loco PGI-2, com uma a três bandas, representando genótipos homozigotos ou heterozigotos para dois alelos. Observou-se um total de três alelos para a espécie, mas apenas dois alelos por acesso de *S. sesban* (Figuras 19 e 20A).

O sistema glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT), considerada uma enzima dimérica, apresentou duas a três regiões de atividade, dependendo da espécie (Figura 17). *S. sesban* apresentou polimorfismo para este sistema, com três locos. O primeiro, de maior Rf, mostrou-se monomórfico com uma banda apenas. O segundo e o terceiro loco apresentaram uma ou três bandas, representando genótipos homozigotos ou heterozigotos para dois alelos, segundo ilustração esquemática e zimograma representados nas Figuras 19 e 20B.

O sistema malato desidrogenase (MDH), também considerado dimérico, apresentou muitas bandas, 16 no total, distribuídas em cinco a seis regiões de atividade. O maior número de bandas foi detectado para *S. grandiflora* (Figura 17). *S. virgata* apresentou polimorfismo para o segundo loco, MDH-2, com uma ou três bandas, representando genótipos homozigotos ou heterozigotos para dois alelos (Figuras 19 e 20C). O primeiro loco ou primeira região de atividade mostrou-se monomórfica com quatro bandas, podendo ser também interpretada como sendo dois locos com duas bandas cada. A terceira região, de menor Rf, também mostrou-se monomórfica com duas bandas.

A fosfatase ácida (ACP) apresentou duas a três regiões de atividade. *S. rostrata* e *S. tetraptera* apresentaram bandas mais fracas em uma região de maior Rf. Para as demais espécies, a região de maior Rf apresentou uma ou duas bandas. A região de menor Rf apresentou três a cinco bandas (Figura 18). *S. exasperata* e *S. virgata* apresentaram uma banda mais fraca acima da região com três bandas. *S. grandiflora*, *S. sesban* e *S. tetraptera* apresentaram cinco bandas na região de menor Rf. Esta enzima é considerada monomérica ou dimérica (Weeden & Wendel, 1990), mas no caso das três espécies citadas acima, pode-se especular que esta

enzima esteja se comportando como tetramérica.

MDH-2: <i>S. virgata</i>			
Alelo			
a1	—		—
			—
a2		—	—
Genótipo	a1a1	a1a2	a2a2

PGI-2: <i>S. sesban</i>				
Alelo				
a1	—		—	
			—	
a2		—	—	—
				—
a3				—
Genótipo	a1a1	a2a2	a1a2	a2a3

GOT-2 e GOT-3: <i>S. sesban</i>					
Alelo					
a1	—	—	—	—	—
			—		—
a2			—		—
a1		—	—	—	—
				—	—
a2	—			—	—
Genótipo	a1a1 a2a2	a1a1 a1a1	a1a2 a1a1	a1a1 a1a2	a1a2 a1a2

Figura 19. Ilustração esquemática dos zimogramas com o padrão de bandas para os locos polimórficos MDH-2, PGI-2, GOT-2 e GOT-3, observados nas espécies *S. virgata* e *S. sesban*. Piracicaba, 1997.

Figura 20. Zimogramas, ainda em gel, para os sistemas PGI (A) e GOT (B) em *Sesbania sesban*, e MDH (C) em *S. virgata*. Piracicaba, 1997.

O sistema isocitrato desidrogenase (IDH), considerado dimérico, apresentou duas regiões de atividade, com a primeira, de maior Rf, apresentando uma banda nítida, e a segunda, de menor Rf, uma banda de resolução mais fraca. A espécie *S. tetraptera* apresentou apenas uma banda na primeira região. O acesso nº 6 de *S. exasperata* apresentou três bandas nítidas na primeira região de atividade e nenhuma banda na região de menor Rf, diferindo dos demais acessos desta espécie (Figura 18).

Os sistemas peroxidase (PRX) e catalase (CAT) foram os únicos a apresentar atividade tanto na região anódica como na catódica (Figura 18). A resolução desses sistemas não foi muito nítida para algumas espécies, sendo de difícil interpretação.

Devido à ausência de polimorfismos intraespecíficos para a maioria dos sistemas estudados, a interpretação dos zimogramas em termos de locos e alelos se tornou inviável. Foi observado, entretanto, polimorfismo interespecífico, o que ficou bem evidenciado na análise de agrupamento, baseada em dados de presença ou ausência de bandas, considerando-se os oito sistemas avaliados, com um total de 88 bandas, para as sete espécies em estudo e os 22 acessos avaliados (Figura 21). Observou-se o seguinte número de bandas por sistema isoenzimático: PGM,9; PGI,12; GOT,11; MDH,16; ACP,13; IDH,7; PRX,11; e CAT,9.

A análise de agrupamento classificou os acessos em três grandes grupos, sendo o primeiro e o segundo representados pelas espécies perenes *S. virgata* (grupo I) e *S. sesban* e *S. grandiflora* (grupos II e III), respectivamente. O terceiro grande grupo classificou as espécies anuais *S. exasperata*, *S. tetraptera*, *S. rostrata* e *S. emerus* (grupos IV, V, VI, VII e VIII). Um total de oito grupos foi obtido, correspondendo às sete espécies e mais um grupo à parte contendo o acesso nº 6 de *S. exasperata*, o qual apresentou padrão de bandas diferente dos demais acessos desta espécie para os sistemas PGM, GOT, MDH, IDH, PRX e CAT (Figuras 17 e 18). Os dois acessos de *S. emerus* também diferiram quanto ao padrão de bandas para PGI e ACP. O acesso nº 9 de *S. sesban* (NO 934) mostrou-se mais distante dos demais acessos desta espécie, apresentando um padrão de bandas diferente dos demais para os sistemas PGM, PGI, GOT e PRX. O acesso nº 14 também se mostrou mais distante dos demais, embora diferindo apenas quanto aos sistemas PGM, PGI e GOT. Os acessos de *S. virgata* mostraram-se menos divergentes entre si.

Figura 21. Dendrograma resultante da análise de agrupamento com dados de presença/ausência de bandas (88 bandas) para oito sistemas isoenzimáticos, utilizando índice de Jaccard (J) e método UPGMA. Grupos: I - *S. virgata* (16-22); II - *S. sesban* (9-14); III - *S. grandiflora* (7); IV - *S. exasperata* (6); V - *S. exasperata* (3-5); VI - *S. tetraptera* (15); VII - *S. rostrata* (8); VIII - *S. emerus* (1-2). Piracicaba, 1997.

A interpretação em termos de locos e alelos foi realizada para os sistemas PGI e GOT em *S. sesban* e MDH em *S. virgata*. As frequências alélicas e genotípicas para os acessos e progênies de *S. sesban* encontram-se descritas nas Tabelas 29, 30, 31, 32 e 33, para os locos dos sistemas PGI e GOT. Os locos PGI-1 e GOT-1 mostraram-se monomórficos, com apenas um alelo. A Figura 19 apresenta a ilustração esquemática do padrão de bandas e genótipos observados para os locos MDH-2 em *S. virgata* e PGI-2, GOT-2 e GOT-3 em *S. sesban*. Foram observados três alelos para o loco PGI-2, o qual se mostrou dimérico. Os acessos nº 9 e 14 de *S. sesban* apresentaram os alelos a1 e a2, e os demais os alelos a2 e a3. Dois alelos foram detectados para os locos GOT-2 e GOT-3 em *S. sesban*, e para o loco MDH-2 em *S. virgata*, todos diméricos.

Tabela 29. Frequências alélicas para os locos PGI-1, PGI-2, GOT-1, GOT-2 e GOT-3 dos acessos de *S. sesban*. Piracicaba, 1997.

Acessos	N ¹	PGI-1			PGI-2		GOT-1		GOT-2		GOT-3	
		a1	a1	a2	a1	a2	a3	a1	a1	a2	a1	a2
Acesso nº 9	24	1,000	0,500	0,500	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
Acesso nº 10	32	1,000	0,000	0,500	0,500	0,500	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000
Acesso nº 12	30	1,000	0,000	0,817	0,183	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000
Acesso nº 14	46	1,000	0,859	0,141	0,000	0,000	0,000	1,000	0,906	0,094	0,453	0,547

¹ Número de indivíduos avaliados.

Tabela 30. Frequências genotípicas para os locos polimórficos PGI-2, GOT-2 e GOT-3, dos acessos de *S. sesban*. Piracicaba, 1997.

Acessos	N ¹	PGI-2						GOT-2				GOT-3	
		a1a1	a1a2	a2a2	a2a3	a3a3	a1a1	a1a2	a2a2	a1a1	a1a2	a1a1	a2a2
Acesso nº 9	24	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00
Acesso nº 10	32	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00
Acesso nº 12	30	0,00	0,00	0,63	0,37	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00
Acesso nº 14	46	0,72	0,28	0,00	0,00	0,00	0,81	0,19	0,00	0,25	0,41	0,25	0,34

¹ Número de indivíduos avaliados.

Tabela 31. Freqüências alélicas e genotípicas para o loco polimórfico PGI-2 das progênes do acesso nº 12 (NO 2419) de *S. sesban*. Piracicaba, 1997.

PGI-2							
Progênie	N ¹	Freqüências alélicas			Freqüências genotípicas		
		a1	a2	a3	a2a2	a2a3	a3a3
Progênie 1	18	0,000	0,556	0,444	0,00	0,11	0,89
" 2	18	0,000	0,611	0,389	0,00	0,22	0,78
" 3	20	0,000	0,975	0,025	0,00	0,95	0,05
" 4	20	0,000	0,900	0,100	0,00	0,80	0,20
" 5	20	0,000	0,850	0,150	0,00	0,70	0,30
" 6	20	0,000	1,000	0,000	0,00	1,00	0,00
" 7	20	0,000	0,500	0,500	0,00	0,00	1,00
" 8	20	0,000	0,750	0,250	0,00	0,50	0,50
" 9	20	0,000	0,875	0,125	0,00	0,75	0,25
" 10	20	0,000	0,650	0,350	0,00	0,30	0,70
" 11	20	0,000	0,900	0,100	0,00	0,80	0,20
" 12	20	0,000	1,000	0,000	0,00	1,00	0,00
" 13	20	0,000	0,950	0,050	0,00	0,90	0,10
" 14	20	0,000	0,875	0,125	0,00	0,75	0,25
" 15	20	0,000	0,950	0,050	0,00	0,90	0,10
" 16	20	0,000	0,600	0,400	0,00	0,20	0,80
" 17	20	0,000	0,825	0,175	0,00	0,65	0,35

¹ Número de indivíduos avaliados.

Tabela 32. Frequências alélicas para os locos PGI-2, GOT-2 e GOT-3, das progênes do acesso nº 14 (NO 2567) de *S. sesban*. Piracicaba, 1997.

Progênie	N ¹	PGI-2			N ²	GOT-2		GOT-3	
		a1	a2	a3		a1	a2	a1	a2
Prog. 1	18	0,806	0,194	0,000	38	0,895	0,105	1,000	0,000
" 2	18	0,917	0,083	0,000	18	0,917	0,083	0,194	0,806
" 3	20	0,900	0,100	0,000	20	0,975	0,025	0,600	0,400
" 4	20	0,925	0,075	0,000	20	1,000	0,000	0,525	0,475
" 5	29	0,948	0,052	0,000	20	1,000	0,000	0,475	0,525
" 6	30	0,883	0,117	0,000	20	0,975	0,025	0,450	0,550
" 7	20	0,750	0,250	0,000	25	0,980	0,020	0,440	0,560
" 8	20	0,750	0,250	0,000	20	0,900	0,100	0,625	0,375
" 9	20	0,900	0,100	0,000	20	1,000	0,000	0,150	0,850
" 10	20	0,950	0,050	0,000	29	1,000	0,000	1,000	0,000
" 11	20	1,000	0,000	0,000	20	1,000	0,000	0,975	0,025
" 12	20	0,950	0,050	0,000	20	1,000	0,000	0,125	0,875
" 13	20	0,750	0,250	0,000	20	0,850	0,150	0,525	0,475
" 14	20	0,750	0,250	0,000	20	0,900	0,100	0,500	0,500
" 15	20	1,000	0,000	0,000	20	1,000	0,000	0,525	0,475
" 16	20	0,950	0,050	0,000	20	1,000	0,000	0,500	0,500

¹ Número de indivíduos avaliados (loco PGI-2)

² Número de indivíduos avaliados (locos GOT-2 e GOT-3)

As Tabelas 34 e 35 apresentam a estimativa dos parâmetros: número médio de alelos por loco polimórfico, porcentagem de locos polimórficos, heterozigosidades médias observadas e esperadas, e índice de fixação intrapopulacional de Wright (f) para os quatro acessos e as progênes dos acessos 12 e 14 de *S. sesban*. Foram avaliadas 17 progênes do acesso nº 12 e 16 progênes do acesso nº 14, amostrando-se 18 a 30 indivíduos/progênie. O número médio de alelos por loco polimórfico obtido foi dois alelos para todos os acessos e progênes, e a porcentagem de locos polimórficos foi 60% para o acesso nº 14 e suas progênes e 20% para os demais acessos e progênes de *S. sesban*. O acesso nº 14 mostrou-se mais polimórfico, apresentando polimorfismo para ambos os sistemas PGI e GOT. As heterozigosidades médias observadas variaram de 0,0 a 0,250, enquanto que as esperadas variaram de 0,0 a 0,232.

Tabela 33. Frequências genotípicas para os locos PGI-2, GOT-2 e GOT-3 das progênie do acesso nº 14 (NO 2567) de *S. sesban*. Piracicaba, 1997.

Progênie	N ¹	PGI-2			N ²	GOT-2		GOT-3		
		a1a1	a1a2	a2a2		a1a1	a1a2	a1a1	a1a2	a2a2
Prog. 1	18	0,61	0,39	0,00	38	0,79	0,21	1,00	0,00	0,00
" 2	18	0,83	0,17	0,00	18	0,83	0,17	0,06	0,28	0,67
" 3	20	0,80	0,20	0,00	20	0,95	0,05	0,40	0,40	0,20
" 4	20	0,85	0,15	0,00	20	1,00	0,00	0,25	0,55	0,20
" 5	29	0,90	0,10	0,00	20	1,00	0,00	0,25	0,45	0,30
" 6	30	0,77	0,23	0,00	20	0,95	0,05	0,20	0,50	0,30
" 7	20	0,50	0,50	0,00	25	0,96	0,04	0,32	0,24	0,44
" 8	20	0,50	0,50	0,00	20	0,80	0,20	0,45	0,35	0,20
" 9	20	0,80	0,20	0,00	20	1,00	0,00	0,00	0,30	0,70
" 10	20	0,90	0,10	0,00	29	1,00	0,00	1,00	0,00	0,00
" 11	20	1,00	0,00	0,00	20	1,00	0,00	0,95	0,05	0,00
" 12	20	0,90	0,10	0,00	20	1,00	0,00	0,00	0,25	0,75
" 13	20	0,50	0,50	0,00	20	0,70	0,30	0,30	0,45	0,25
" 14	20	0,50	0,50	0,00	20	0,80	0,20	0,25	0,50	0,25
" 15	20	1,00	0,00	0,00	20	1,00	0,00	0,20	0,65	0,15
" 16	20	0,90	0,10	0,00	20	1,00	0,00	0,25	0,50	0,25

¹ Número de indivíduos avaliados (loco PGI-2)

² Número de indivíduos avaliados (locos GOT-2 e GOT-3)

Quanto aos índices de fixação intrapopulacionais obtidos, observou-se grande variação entre os acessos de *S. sesban*. Os acessos 9 e 10 apresentaram índices de fixação negativos e próximos de um (-0,9569 e -0,9685), indicando excesso de heterozigotos e ausência de equilíbrio de Hardy-Weinberg (Tabelas 34 e 36). Tal constatação é facilmente observada na Tabela 30, cujas frequências genotípicas para PGI-2 foram 1,0 para os genótipos heterozigotos a1a2 e a2a3 dos dois acessos, respectivamente. Esses acessos mostraram-se monomórficos para os alelos a1 e a2, genótipos a1a1 e a2a2 nos locos GOT-2 e GOT-3. As progênie 1, 2, 7, 10 e 16 do acesso nº 12 também apresentaram índices de fixação negativos e de valores elevados, indicando excesso de heterozigotos, o que é confirmado na Tabela 37, que indica ausência de equilíbrio de Hardy-Weinberg devido ao excesso de heterozigotos.

Tabela 34. Estimativas dos parâmetros: número médio de alelos por loco polimórfico (A), porcentagem de locos polimórficos (P), heterozigotidade média observada e esperada, e índice de fixação intrapopulacional de Wright (f) para acessos de *S. sesban*, e progênie do acesso nº 12 (NO 2419) de *S. sesban*. Piracicaba, 1997.

Acesso/progênie	N ¹	A	P (%)	Heterozigotidade Média		Índice de Fixação (f)
				Observada ($\pm$ se)	Esperada ($\pm$ se)	
Acesso nº 9	24	2,0	20,00	0,200 $\pm$ 0,20	0,102 $\pm$ 0,10	-0,9569
Acesso nº 10	32	2,0	20,00	0,200 $\pm$ 0,20	0,102 $\pm$ 0,10	-0,9685
Acesso nº 12	30	2,0	20,00	0,073 $\pm$ 0,07	0,061 $\pm$ 0,06	-0,2033
Acesso nº 14	46	2,0	60,00	0,175 $\pm$ 0,08	0,184 $\pm$ 0,09	0,0478
Ac. nº 12 –Prog. 1	18	2,0	20,00	0,178 $\pm$ 0,18	0,102 $\pm$ 0,10	-0,7500
Progênie 2	18	2,0	20,00	0,156 $\pm$ 0,16	0,098 $\pm$ 0,10	-0,5910
“ 3	20	2,0	20,00	0,010 $\pm$ 0,01	0,010 $\pm$ 0,01	0,0000
“ 4	20	2,0	20,00	0,040 $\pm$ 0,04	0,037 $\pm$ 0,04	-0,0811
“ 5	20	2,0	20,00	0,060 $\pm$ 0,06	0,052 $\pm$ 0,05	-0,1450
“ 6	20	2,0	20,00	0,000	0,000	-
“ 7	20	2,0	20,00	0,200 $\pm$ 0,20	0,103 $\pm$ 0,10	-0,9493
“ 8	20	2,0	20,00	0,100 $\pm$ 0,10	0,077 $\pm$ 0,08	-0,2987
“ 9	20	2,0	20,00	0,050 $\pm$ 0,05	0,045 $\pm$ 0,04	-0,1161
“ 10	20	2,0	20,00	0,140 $\pm$ 0,14	0,093 $\pm$ 0,09	-0,4989
“ 11	20	2,0	20,00	0,040 $\pm$ 0,04	0,037 $\pm$ 0,04	-0,0811
“ 12	20	2,0	20,00	0,000	0,000	-
“ 13	20	2,0	20,00	0,020 $\pm$ 0,02	0,019 $\pm$ 0,02	-0,0309
“ 14	20	2,0	20,00	0,050 $\pm$ 0,05	0,045 $\pm$ 0,04	-0,1161
“ 15	20	2,0	20,00	0,020 $\pm$ 0,02	0,019 $\pm$ 0,02	-0,0309
“ 16	20	2,0	20,00	0,160 $\pm$ 0,16	0,098 $\pm$ 0,10	-0,6260
“ 17	20	2,0	20,00	0,070 $\pm$ 0,07	0,059 $\pm$ 0,06	-0,1824

¹ Número de indivíduos avaliados.

Tabela 35. Estimativas dos parâmetros: número médio de alelos por loco polimórfico (A), porcentagem de locos polimórficos (P), heterozigosidade média observada e esperada, e índice de fixação intrapopulacional de Wright (f) para as progênes do acesso nº 14 (NO 2567) de *S. sesban*. Piracicaba, 1997.

Acesso/progênie	N ¹	A	P (%)	Heterozigosidade Média		Índice de Fixação (f)
				Observada ($\pm$ se)	Esperada ($\pm$ se)	
Progênie 1	38	2,0	60,00	0,120 $\pm$ 0,17	0,103 $\pm$ 0,15	-0,1696
" 2	18	2,0	60,00	0,122 $\pm$ 0,12	0,127 $\pm$ 0,13	0,0377
" 3	20	2,0	60,00	0,130 $\pm$ 0,17	0,145 $\pm$ 0,21	0,1059
" 4	20	2,0	60,00	0,140 $\pm$ 0,24	0,131 $\pm$ 0,22	-0,0703
" 5	29	2,0	60,00	0,111 $\pm$ 0,19	0,122 $\pm$ 0,22	0,0964
" 6	30	2,0	60,00	0,157 $\pm$ 0,21	0,154 $\pm$ 0,21	-0,0195
" 7	25	2,0	60,00	0,156 $\pm$ 0,21	0,186 $\pm$ 0,24	0,1595
" 8	20	2,0	60,00	0,210 $\pm$ 0,22	0,210 $\pm$ 0,22	0,0010
" 9	20	2,0	60,00	0,100 $\pm$ 0,14	0,089 $\pm$ 0,12	-0,1186
" 10	29	2,0	60,00	0,020 $\pm$ 0,04	0,019 $\pm$ 0,04	-0,0309
" 11	20	2,0	60,00	0,010 $\pm$ 0,02	0,010 $\pm$ 0,02	0,0000
" 12	20	2,0	60,00	0,070 $\pm$ 0,11	0,064 $\pm$ 0,10	-0,0903
" 13	20	2,0	60,00	0,250 $\pm$ 0,24	0,232 $\pm$ 0,23	-0,0785
" 14	20	2,0	60,00	0,240 $\pm$ 0,25	0,217 $\pm$ 0,23	-0,1080
" 15	20	2,0	60,00	0,130 $\pm$ 0,29	0,102 $\pm$ 0,23	-0,2695
" 16	20	2,0	60,00	0,120 $\pm$ 0,21	0,122 $\pm$ 0,22	0,0164

¹ Número de indivíduos avaliados.

As demais progênes apresentaram índices de fixação negativos mas de menor magnitude, estando em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Já o acesso nº 14 apresentou um índice de fixação positivo e próximo de zero, indicando que os indivíduos deste acesso encontram-se provavelmente em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A Tabela 36 confirma esta situação de equilíbrio de Hardy-Weinberg para o acesso nº 14. As progênes deste acesso, no entanto, apresentaram índices de fixação positivos e negativos, mas de baixa magnitude, mostrando-se em equilíbrio Hardy-Weinberg (Tabela 37), exceto a progênie 7, que apresentou excesso de homozigotos.

Tabela 36. Análise dos desvios do equilíbrio Hardy-Weinberg PGI-2, GOT-2 e GOT-3 dos acessos avaliados de *S. sesban*. Piracicaba, 1997.

Acesso	PGI-2			GOT-2			GOT-3		
	Geral	Déficit	Excesso	Geral	Déficit	Excesso	Geral	Déficit	Excesso
Acesso nº 9	0,000 ¹	ns ²	0,000	-	-	-	-	-	-
" nº 10	0,000	ns	0,000	-	-	-	-	-	-
" nº 12	ns	ns	ns	-	-	-	-	-	-
" nº 14	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Total ³	0,000	-	-	ns	-	-	ns	-	-

¹ Probabilidades de rejeitar a hipótese do equilíbrio Hardy-Weinberg devido a todas as razões possíveis (geral), ou somente devido ao excesso de homozigotos (Déficit) ou excesso de heterozigotos (Excesso). Somente as probabilidades significativas ($P < 0,05$) são apresentadas.

² Probabilidades maiores que 0,05, não significativas.

³ Teste de probabilidade combinado de Fisher.

Tabela 37. Análise dos desvios do equilíbrio Hardy-Weinberg para o loco PGI-2 do acesso nº 12 (NO 2419) e locos PGI-2, GOT-2 e GOT-3 das progênies do acesso nº 14 (NO 2567) de *S. sesban*. Piracicaba, 1997.

Progênies do ac. nº 12 ----- Progênies do acesso nº 14 -----													
PGI-2							PGI-2						
PGI-2							PGI-2						
Progênie	Geral	Déficit	Excesso	Geral	Déficit	Excesso	Geral	Déficit	Excesso	Geral	Déficit	Excesso	Excesso
Prog 1	0,002 ¹	ns ²	0,001	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-	-	-
" 2	0,014	ns	0,013	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
" 3	-	-	-	ns	ns	ns	-	-	-	ns	ns	ns	ns
" 4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-	-	-	ns	ns	ns	ns
" 5	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-	-	-	ns	ns	ns	ns
" 6	-	-	-	ns	ns	ns	-	-	-	ns	ns	ns	ns
" 7	0,000	ns	0,000	ns	ns	ns	-	-	-	0,014	0,010	ns	ns
" 8	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
" 9	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-	-	-	ns	ns	ns	ns
" 10	0,043	ns	0,027	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-	-	-	-
" 11	ns	ns	ns	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" 12	-	-	-	ns	ns	ns	-	-	-	ns	ns	ns	ns
" 13	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
" 14	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
" 15	ns	ns	ns	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns
" 16	0,005	ns	0,005	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
" 17	ns	ns	ns	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total ³	0,000	-	-	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	-

¹ Probabilidades de rejeitar a hipótese do equilíbrio Hardy-Weinberg devido a todas as razões possíveis (geral), ou somente devido ao excesso de homozigotos (Déficit) ou excesso de heterozigotos (Excesso). Somente as probabilidades significativas (P<0,05) são apresentadas.

² Probabilidades maiores que 0,05, não significativas.

³ Teste de probabilidade combinado de Fisher.

As frequências alélicas e genotípicas para o loco MDH-2 dos acessos e progênies de *S. virgata* encontram-se descritas na Tabela 38. Foram avaliadas 16 progênies do acesso nº 22, amostrando-se 20 a 25 indivíduos por progênie. Observou-se predominância e quase fixação do alelo a2, exceto os acessos nº 17 e 22. As frequências genotípicas indicam frequência de 90% para o genótipo a1a1 do acesso nº 17 e frequências de 95, 89, 97, 100 e 97% para o genótipo a2a2 dos acessos nº 16, 18, 19, 20 e 21, respectivamente. O acesso nº 22 mostrou-se altamente polimórfico para este loco, apresentando frequências de 50% para a1a1, 22% para a1a2 e 28% para a2a2. Suas progênies apresentaram predominância tanto do alelo a1 (progênies 1, 4, 7, 9, 11, 14), como do alelo a2 (prog. 2, 3, 6, 13, 16), ou mesmo frequências intermediárias para ambos os alelos, como por exemplo a progênie 8, com frequência de 0,525 para o alelo a1 e 0,475 para o alelo a2.

O número médio de alelos por loco polimórfico, no caso apenas o loco MDH-2, foi de dois alelos para todos os acessos e progênies de *S. virgata* (Tabela 39). A porcentagem de locos polimórficos foi de 33%. As heterozigosidades médias observadas variaram de 0,0 a 0,200 e as heterozigosidades médias esperadas de 0,0 a 0,171. Com exceção do acesso nº 22, as heterozigosidades foram baixas para os demais acessos. Deve-se considerar, no entanto, que utilizou-se para essas estimativas apenas um sistema enzimático, que por sua vez foi o único que apresentou polimorfismo para *S. virgata*, de um total de oito sistemas avaliados. Os índices de fixação foram negativos mas próximos de zero para os acessos de *S. virgata*, exceto o nº 22, indicando provavelmente uma situação de equilíbrio de Hardy-Weinberg, o que é confirmado na Tabela 40, em que com exceção do acesso nº 22, que apresentou excesso de homozigotos, todos os demais encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg. As progênies do acesso nº 22, que mostrou-se o mais polimórfico de todos os acessos de *S. virgata*, apresentaram índices de fixação tanto negativos como positivos, mas de baixa magnitude, exceto a progênie 11, com $f = 0,4667$. A análise dos desvios do equilíbrio Hardy-Weinberg (Tabela 40) mostrou que todas as progênies encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A probabilidade de rejeitar a hipótese de equilíbrio Hardy-Weinberg para a progênie 11 foi 0,1211, de menor magnitude que as demais progênies, indicando uma tendência ao nível de 12,11% para um excesso de homozigotos.

Tabela 38. Frequências alélicas e genotípicas para o loco MDH-2 dos acessos de *S. virgata* e progênies do acesso nº 22 (NO 2565). Piracicaba, 1997.

Acesso/Prog.	N ¹	Freq. alélicas		Freq. genotípicas		
		a1	a2	a1a1	a1a2	a2a2
Acesso nº 16	42	0,024	0,976	0,00	0,05	0,95
Acesso nº 17	30	0,950	0,050	0,90	0,10	0,00
Acesso nº 18	27	0,056	0,944	0,00	0,11	0,89
Acesso nº 19	35	0,014	0,986	0,00	0,03	0,97
Acesso nº 20	29	0,000	1,000	0,00	0,00	1,00
Acesso nº 21	35	0,014	0,986	0,00	0,03	0,97
Acesso nº 22	32	0,609	0,391	0,50	0,22	0,28
Progênie 1	20	0,950	0,050	0,90	0,10	0,00
“ 2	20	0,000	1,000	0,00	0,00	1,00
“ 3	20	0,375	0,625	0,10	0,55	0,35
“ 4	20	0,900	0,100	0,80	0,20	0,00
“ 5	20	0,450	0,550	0,25	0,40	0,35
“ 6	20	0,025	0,975	0,00	0,05	0,95
“ 7	20	0,950	0,050	0,90	0,10	0,00
“ 8	20	0,525	0,475	0,25	0,55	0,20
“ 9	20	0,975	0,025	0,95	0,05	0,00
“ 10	20	0,500	0,500	0,30	0,40	0,30
“ 11	25	0,920	0,080	0,88	0,08	0,04
“ 12	20	0,500	0,500	0,25	0,50	0,25
“ 13	20	0,400	0,600	0,15	0,50	0,35
“ 14	20	0,975	0,025	0,95	0,05	0,00
“ 15	20	0,450	0,550	0,15	0,60	0,25
“ 16	20	0,025	0,975	0,00	0,05	0,95

¹ Número de indivíduos avaliados.

Tabela 39. Estimativas dos parâmetros número médio de alelos por loco polimórfico (A), porcentagem de locos polimórficos (P), heterozigosidade média observada e esperada, e índice de fixação de Wright (f) para acessos de *S. virgata* e progênie do acesso nº 22. Piracicaba, 1997.

Acesso/progênie	N ¹	A	P (%)	Heterozigosidade Média		Índice de Fixação (f)
				Observada ($\pm$ se)	Esperada ($\pm$ se)	
Acesso nº 16	42	2,0	33,33	0,016 $\pm$ 0,03	0,016 $\pm$ 0,03	-0,0213
Acesso nº 17	30	2,0	33,33	0,033 $\pm$ 0,06	0,032 $\pm$ 0,05	-0,0309
Acesso nº 18	27	2,0	33,33	0,037 $\pm$ 0,06	0,036 $\pm$ 0,06	-0,0374
Acesso nº 19	2,0	2,0	33,33	0,010 $\pm$ 0,01	0,010 $\pm$ 0,01	0,0000
Acesso nº 20	29	2,0	33,33	0,000	0,000	0,0000
Acesso nº 21	35	2,0	33,33	0,010 $\pm$ 0,01	0,010 $\pm$ 0,01	-0,0000
Acesso nº 22	32	2,0	33,33	0,073 $\pm$ 0,12	0,161 $\pm$ 0,28	0,5475
Progênie 1	20	2,0	33,33	0,033 $\pm$ 0,06	0,032 $\pm$ 0,05	-0,0309
" 2	20	2,0	33,33	0,000	0,000	
" 3	20	2,0	33,33	0,183 $\pm$ 0,32	0,160 $\pm$ 0,28	-0,1435
" 4	20	2,0	33,33	0,067 $\pm$ 0,11	0,062 $\pm$ 0,10	-0,0811
" 5	20	2,0	33,33	0,133 $\pm$ 0,23	0,169 $\pm$ 0,29	0,2126
" 6	20	2,0	33,33	0,017 $\pm$ 0,03	0,017 $\pm$ 0,03	0,0000
" 7	20	2,0	33,33	0,033 $\pm$ 0,06	0,032 $\pm$ 0,05	-0,0309
" 8	20	2,0	33,33	0,183 $\pm$ 0,32	0,171 $\pm$ 0,29	-0,0742
" 9	20	2,0	33,33	0,017 $\pm$ 0,03	0,017 $\pm$ 0,03	0,0000
" 10	20	2,0	33,33	0,133 $\pm$ 0,23	0,171 $\pm$ 0,30	0,2203
" 11	20	2,0	33,33	0,027 $\pm$ 0,04	0,050 $\pm$ 0,08	0,4667
" 12	20	2,0	33,33	0,167 $\pm$ 0,29	0,171 $\pm$ 0,29	0,0253
" 13	20	2,0	33,33	0,167 $\pm$ 0,29	0,164 $\pm$ 0,28	-0,0163
" 14	20	2,0	33,33	0,017 $\pm$ 0,03	0,017 $\pm$ 0,03	0,0000
" 15	20	2,0	33,33	0,200 $\pm$ 0,34	0,169 $\pm$ 0,29	-0,1811
" 16	20	2,0	33,33	0,017 $\pm$ 0,03	0,017 $\pm$ 0,03	0,0000

¹ N = número de indivíduos avaliados.

Tabela 40. Análise dos desvios do equilíbrio Hardy-Weinberg dos acessos avaliados e progênie do acesso nº 22 (NO 2565) de *S. virgata*. Piracicaba, 1997.

Acess/prog.	Geral	Déficit	Excesso
Acesso nº 16	ns ²	ns	ns
“ nº 17	ns	ns	ns
“ nº 18	ns	ns	ns
“ nº 19	-	-	-
“ nº 20	-	-	-
“ nº 21	-	-	-
“ nº 22	0,003 ¹	0,002	ns
Total acess. ³	ns	-	-
Progênie 1	ns	ns	ns
“ 2	-	-	-
“ 3	ns	ns	ns
“ 4	ns	ns	ns
“ 5	ns	ns	ns
“ 6	-	-	-
“ 7	ns	ns	ns
“ 8	ns	ns	ns
“ 9	-	-	-
“ 10	ns	ns	ns
“ 11	ns	ns	ns
“ 12	ns	ns	ns
“ 13	ns	ns	ns
“ 14	-	-	-
“ 15	ns	ns	ns
“ 16	-	-	-
Total prog. ³	ns	-	-

¹ Probabilidades de rejeitar a hipótese do equilíbrio Hardy-Weinberg devido a todas as razões possíveis (Geral), ou devido ao excesso de homozigotos (Déficit) ou excesso de heterozigotos (Excesso). Somente as probabilidades significativas ($P < 0,05$) são apresentadas.

² Probabilidades maiores que 0,05, não significativas.

³ Teste de probabilidade combinado de Fisher.

A Tabela 41 apresenta os índices de diversidade propostos por Nei (1973), mostrando que no caso dos quatro acessos de *S. sesban*, 62,6% da variação total observada foi devido à variação entre os acessos, com 37,4% devido à variação dentro de acessos. Já no caso das progênie de *S. sesban*, 16,7 a 20,2% da variação total foi devido à variação entre plantas individuais. Este é um resultado válido, já que foram observadas grandes variações para as frequências alélicas e genotípicas e para o índice de fixação entre os acessos avaliados de *S. sesban*. Já o ensaio de progênie

envolve a avaliação de plantas de um mesmo acesso, o que explica a maior uniformidade entre indivíduos. Resultado semelhante foi obtido para *S. virgata*, com 69,3% da variação total observada devido à variação entre os diferentes acessos, e 47,4% da variação total devido à variação entre plantas das progêneses do acesso nº 22. Este é um valor relativamente alto por se tratar de progêneses, o que indica a maior diversidade entre plantas do acesso nº 22 de *S. virgata*.

Tabela 41. Estimativa da diversidade genética (Nei, 1973) para *Sesbania sesban* e progêneses dos acessos nº 12 e 24, e para *S. virgata* e progênie do acesso nº 22, para os locos em estudo. Piracicaba, 1997.

Locos		Espécie/progênie				
		<i>S. sesban</i> (4 acessos)	<i>S. sesban</i> (prog. ac.12)	<i>S. sesban</i> (prog. ac.24)	<i>S. virgata</i> (7acessos) (MDH-2)	<i>S. virgata</i> (prog. ac. 22) (MDH-2)
PGI-2	H _T ¹	0,616	0,308	0,206	-	-
	H _S	0,385	0,256	0,191	-	-
	G _{ST}	0,374	0,167	0,076	-	-
GOT-2	H _T	0,397	-	0,073	-	-
	H _S	0,042	-	0,068	-	-
	G _{ST}	0,893	-	0,067	-	-
GOT-3	H _T	0,462	-	0,497	-	-
	H _S	0,124	-	0,360	-	-
	G _{ST}	0,732	-	0,275	-	-
Todos os locos	H _T	0,295	0,062	0,155	0,363	0,493
	H _S	0,110	0,051	0,124	0,111	0,259
	G _{ST}	0,626	0,167	0,202	0,693	0,474

¹ H_T – diversidade total da espécie; H_S – diversidade dentro de acessos; G_{ST} – diversidade entre acessos.

6.6 Discussão

Foi avaliado neste estudo o padrão eletroforético de oito sistemas isoenzimáticos de sete espécies do gênero *Sesbania*. Até a presente data, o único trabalho citado na literatura envolvendo a caracterização eletroforética de espécies de

Sesbania foi o de Saraswati et al. (1993), avaliando 17 espécies de *Sesbania*, utilizando proteína da semente e gel de poliacrilamida. Foram obtidos padrões de proteína espécie-específicos para 15 espécies de *Sesbania*. Plumb et al. (1996) e Heering et al. (1996c) avaliaram diversos acessos das espécies *S. sesban* e *S. goetzei* bioquimicamente, por padrões de cromatografia líquida de alta resolução (HPLC). Heering et al. (1996c) observaram diferenças significativas ($P < 0,001$) entre 103 acessos de *S. sesban* para concentrações de fenóis solúveis e de proantocianidina insolúvel, com os acessos pertencentes à var. *nubica* apresentando padrões quantitativamente e qualitativamente diferentes dos obtidos para as variedades *sesban* e *bicolor*.

Os acessos e espécies avaliados no presente estudo mostraram-se monomórficos para a maioria dos sistemas isoenzimáticos avaliados, apresentando alto nível de polimorfismo somente para os sistemas PGI e GOT em *S. sesban* e MDH em *S. virgata*. Como não se conhece a maneira como a maioria dos acessos foram originalmente coletados, pode-se supor que os mesmos tenham sido provenientes da coleta de sementes de um único indivíduo, aumentando as chances de se obter padrões monomórficos e/ou fixação de alelos. No entanto, os acessos nº 19, 20, 21 e 22 de *S. virgata* foram coletados no presente trabalho, amostrando-se diversas plantas por local de coleta e, mesmo assim, com exceção do sistema MDH, os demais sistemas mostraram-se monomórficos.

A espécie *S. grandiflora*, do subgênero *Agati*, representada por um único acesso, apresentou um padrão de bandas mais complexo para alguns sistemas em comparação com as demais espécies, o que resulta provavelmente do maior nível de ploidia. Esta é uma espécie tetraplóide ($2n=24$), em comparação com as demais espécies, neste estudo, consideradas diplóides ($2n=12$) (Monteiro, 1984; Evans, 1988). O maior número de bandas observado para *S. grandiflora* está de acordo com o estudo realizado por Jain & Singh (1979), que observaram que o número de bandas aumentou com o aumento dos níveis de ploidia em espécies de *Avena*.

A análise de agrupamento realizada com dados de presença/ausência de bandas isoenzímicas, classificou as espécies anuais em um grande grupo separado das espécies perenes alocadas em dois outros grandes grupos (Figura 21), à semelhança da análise de agrupamento realizada com dados agronômicos, que também separou as espécies perenes das anuais (item 5). Outro paralelo pode ser

observado comparando-se a análise de agrupamento para dados morfológicos com os dados de isoenzimas do presente trabalho, separando os acessos de *S. virgata*, pertencentes ao subgênero *Daubentonia* (Monteiro, 1984) em um grupo separado das demais espécies, pertencentes aos subgêneros *Sesbania*, *Agati* e *Pterosesbania*. As espécies do subgênero *Daubentonia* são originárias do Novo Mundo, ou seja, das Américas, enquanto que as espécies do subgênero *Sesbania* são originárias tanto do Novo Mundo (*S. emerus* e *S. exasperata*), como do Velho Mundo (*S. rostrata* e *S. sesban*) (Monteiro, 1984). O subgênero *Daubentonia*, segundo Monteiro (1984), deve ter surgido por evolução a partir de espécies do subgênero *Sesbania* que se estabeleceram no Novo Mundo por dispersão a longa distância ou por migração através de pontes intercontinentais formadas antes da separação dos continentes. A única espécie do subgênero *Pterosesbania* (*S. tetraptera*) é originária da África, enquanto que o subgênero *Agati* (*S. grandiflora*) possui espécies originárias da Austrália e da Ásia (Monteiro, 1984).

Outro paralelo que se pode observar entre a análise de agrupamento com dados de isoenzimas e as análises de agrupamento com dados morfológicos e agronômicos (item 5), é a separação do acesso nº 6 em um grupo separado dos demais acessos de *S. exasperata*, tanto para os dados morfológicos e agronômicos, como para os isoenzímicos, embora presente no mesmo grande grupo que os demais, apresentando diferente padrão de bandas para os sistemas PGM, GOT, MDH, IDH, PRX e CAT. Por outro lado, a análise de isoenzimas classificou em um mesmo grupo os acessos nº 1 e 2 de *S. emerus*, os quais diferiram quanto ao padrão de bandas para apenas dois sistemas, PGI e ACP. No entanto, esses acessos apresentaram diferenças marcantes com relação aos dados morfológicos e agronômicos, tais como número de dias para início de florescimento (42,1 vs 175 dias) e frutificação (135,1 vs 237,4 dias), diâmetro do caule (7,4 vs 32,7mm), comprimento da folha (9,4 vs 18,9cm), número de flores (2,7 vs 5,2), produção de sementes (35,9 vs 151,4g), entre outros (item 4). Os dois acessos de *S. emerus* foram classificados em grupos distintos pela análise de agrupamento realizada com dados morfológicos e agronômicos, o que poderia levar à suspeita de que os mesmos deveriam pertencer a espécies distintas. A análise de isoenzimas, no entanto, confirmou a identificação desses acessos como pertencentes a uma mesma espécie.

Outra observação interessante é o agrupamento dos acessos nº 17 e 22 de *S. virgata* num mesmo subgrupo, dentro do grupo I de *S. virgata* (Figura 21). Tal agrupamento resulta da predominância do alelo a1 do loco MDH-2 que esses dois acessos compartilham, contrastando com a predominância do alelo a2 deste loco para os demais acessos. Foi também observado o agrupamento desses dois acessos num subgrupo isolado na análise de agrupamento com dados agronômicos e morfológicos (item 5), por apresentarem maior vigor de estabelecimento e altura da planta no florescimento (características agronômicas), além de maior diâmetro do caule, comprimento da folha e do folíolo, comprimento da inflorescência, e menor comprimento da vagem e número de sementes por vagem (características morfológicas), quando comparados aos demais acessos de *S. virgata*.

As únicas espécies que apresentaram alto grau de polimorfismo neste estudo foram *S. sesban* e *S. virgata*. Os valores obtidos para as heterozigosidades médias esperadas para *S. sesban*, variando de 0,0 a 0,232 e para *S. virgata*, variando de 0,0 a 0,200, estão de acordo com as heterozigosidades esperadas obtidas para outras espécies arbóreas e arbustivas tropicais, como por exemplo o gênero *Acacia*, variando de 0,017 a 0,300, as espécies *Erythrina costaricensis* (0,0152), *Dipterix panamensis* (0,074), *Piper amalago* (0,033), *Enterolobium schonburgkii* (0,122), *Inga minutula* (0,240), entre outras (Reis, 1996). Hamrick (1990) comparou as heterozigosidades obtidas entre espécies de árvores tropicais com árvores de coníferas e espécies dicotiledôneas, concluindo que plantas lenhosas, em geral, mantém maior variação intrapopulacional que espécies herbáceas. O autor cita uma heterozigosidade média de 0,211 para espécies de árvores tropicais, comparada com 0,113 para as dicotiledôneas.

O índice de fixação de Wright, chamado também de coeficiente de endogamia, é usado para quantificar os efeitos da endogamia em termos da redução na heterozigosidade que pode ocorrer nas populações em equilíbrio. Esta medida permite medir a quantidade de endogamia pela comparação da proporção observada de genótipos heterozigotos (heterozigosidade observada) com a proporção de genótipos heterozigotos esperada para uma população de acasalamento ao acaso (heterozigosidade esperada) (Torggler et al., 1995). Os índices de fixação intrapopulacionais de Wright (Wright, 1978) negativos e próximos de um obtidos para os acessos nº 9 e 10 de *S. sesban* estão indicando excesso de heterozigotos, o que

pode ter sido resultado de um efeito de seleção. Genótipos altamente heterozigotos devem ter sido selecionados e mantidos nesta condição. O acesso nº 9 de *S. sesban* se sobressaiu nas análises com dados agronômicos, apresentando maior produção de matéria seca, altura da planta e vigor de rebrota, entre outras características (item 5). Pode-se supor que tais resultados sejam um provável efeito de heterose. O acesso nº 14 de *S. sesban* foi o que apresentou maior polimorfismo, encontrando-se numa situação de equilíbrio de Hardy-Weinberg. De suas progênies, apenas uma mostrou-se conter excesso de homozigotos.

Foram estimadas taxas de cruzamento aparente em torno de 91% para este acesso e de 29% para o acesso nº 22 de *S. virgata*, indicando alogamia parcial como modo de reprodução. Em vista do baixo número de locos polimórficos avaliados tanto para *S. sesban* como para *S. virgata*, deixou-se de estimar a taxa de cruzamento aparente para os demais acessos de *S. sesban* e *S. virgata*. Embora com poucos locos polimórficos, as taxas de cruzamento estimadas no presente estudo indicam que essas espécies se reproduzem tanto por polinização cruzada como por autofecundação. A presença em grande quantidade de agentes polinizadores como mamangaba e abelhas melíferas (*Apis mellifera*) visitando flores de *Sesbania* em experimento de campo (item 5), de onde foram colhidas as sementes para este estudo, já é um indicativo de que deve estar ocorrendo polinização cruzada, levando essas espécies a uma condição de alogamia.

As sesbanias perenes são consideradas plantas alógamas (Brewbaker, 1990). Entretanto, segundo o autor, existem poucos dados utilizando polinização manual para confirmar a presença de autocompatibilidade ou de auto-incompatibilidade no gênero. Estudos envolvendo a polinização manual das espécies *S. sesban*, *S. goetzei* e *S. keniensis* mostraram que essas três espécies se reproduzem tanto por polinização cruzada como por autopolinização (Heering, 1994). O autor observou que a porcentagem de sementes totalmente desenvolvidas foi maior em vagens formadas após a polinização cruzada que após a autopolinização, concluindo que a polinização cruzada é, provavelmente, o método de reprodução mais comum em condições naturais para essas espécies, embora a autopolinização possa ocorrer de forma significativa em árvores isoladas. Novos estudos visando a estimativa de taxas de cruzamento, utilizando para tanto maior número de locos polimórficos, mostram-se necessários.

7 CONCLUSÕES GERAIS

Observou-se variação tanto inter como intraespecífica para os caracteres altura da planta (APL), comprimento do epicótilo (CEP), comprimento (CE1) e largura (LE1) do primeiro eófilo e número de pares de folíolos (NPF) obtidos nas avaliações de plântulas de *Sesbania*. O caráter comprimento do hipocótilo (CH) apresentou variação inter mas não intraespecífica. Da mesma forma, a maioria dos caracteres morfológicos e agronômicos obtidos em plantas adultas mostraram variação significativa ($P < 0,05$) tanto inter como intraespecífica, evidenciando a grande variabilidade entre e dentro das espécies de *Sesbania* em estudo. Os dados de isoenzimas, no entanto, mostraram variação interespecífica, com apenas duas espécies apresentando polimorfismo intraespecífico: *S. sesban*, com os sistemas PGI e GOT, e *S. virgata*, com o sistema MDH. Para as demais espécies, observou-se polimorfismo intraespecífico para alguns sistemas, mas em níveis muito baixos, apenas 3 a 4%.

Quanto à estimativa de parâmetros genéticos, o maior coeficiente de variação genética intrapopulacional (CVg_i) para dados de plântulas foi 43,56 para o caráter LE1, apresentando também o maior coeficiente de determinação genotípica intrapopulacional (b_i), 0,9457, indicando possibilidade de seleção para este caráter. Para os dados morfológicos e agronômicos de plantas adultas, de modo geral os valores de b_i foram altos, acima de 0,80, indicando a possibilidade de seleção de genótipos superiores. Já os valores de CVg_i variaram de acordo com o caráter e a espécie.

As espécies avaliadas apresentaram comportamento diferencial com relação à altura da planta (APL), tanto ao nível de plântulas como nas plantas adultas. Aos 17 dias do plantio, a espécie anual *S. exasperata* apresentou maior APL, seguida

de *S. virgata*. Aos 62 dias do plantio, a espécie perene *S. sesban* foi a que apresentou maior APL. Nas plantas adultas, as espécies anuais *S. emerus*, exceto o acesso nº 1, *S. exasperata* e *S. rostrata* apresentaram as maiores alturas aos seis meses após a semeadura. Já aos 14 e 18 meses após a semeadura, a espécie *S. sesban*, exceto os acessos nº 11 e 13, apresentou maior altura da planta. Tais resultados parecem mostrar uma equivalência do desenvolvimento que ocorre ao nível de plântula com o desenvolvimento que ocorre com as plantas adultas por ocasião do florescimento. O crescimento é maior inicialmente para as espécies anuais, que cedem espaço posteriormente para as perenes, que por sua vez produzirão mais biomassa para poderem sobreviver.

A produção de matéria seca de folhas (PMSF) e de hastes (PMSH) nos quatro cortes realizados confirma este fato. No primeiro corte, seis meses após a semeadura, as maiores PMSF e PMSH foram obtidas para as espécies anuais *S. exasperata*, *S. rostrata* e *S. tetraptera*, enquanto que a partir do 2º corte, 10 meses após a semeadura, as espécies perenes *S. sesban* e *S. virgata* apresentaram as maiores PMSF e PMSH. O pico de produção foi observado no 3º corte. O acesso nº 9 (NO 934) de *S. sesban* foi o mais produtivo em todos os cortes, apresentando maior vigor de rebrota e mostrando-se, portanto, promissor para uso como forrageira.

Devido às diferenças observadas entre espécies anuais e perenes, principalmente com relação aos dados agronômicos, pode-se classificar as espécies anuais como estrategistas *r*, apresentando maior esforço reprodutivo, evidenciado na maior produção de sementes quando comparadas às espécies perenes. Estas, por sua vez, se assemelham às espécies classificadas como estrategistas *k*, pois apresentaram maior produção de biomassa, em detrimento da produção de sementes.

Nas análises de agrupamento realizadas com dados de plântulas, dados morfológicos e agronômicos de plantas adultas, e dados de isoenzimas, se observa a variação interespecífica, separando as diferentes espécies em grupos distintos, e também a variação intraespecífica. O acesso NO 934 de *S. sesban*, identificado como nº 5 no item 3 e nº 9 nos itens 4, 5 e 6, que se destacou em termos de produção de biomassa, mostrou-se geneticamente distante dos demais acessos de *S. sesban* em todas as análises, tendo sido classificado em grupos distintos nas análises com dados de plântulas e dados agronômicos, e em subgrupos distintos

dentro do grupo desta espécie nas análises com dados morfológicos e agronômicos selecionados e dados de isoenzimas.

O acesso nº 6 de *S. exasperata* foi classificado em grupos distintos dos demais acessos desta espécie em todas as análises, exceto na análise com dados de plântulas, onde o mesmo não estava incluído, mostrando a divergência deste acesso e, mais uma vez, a grande variabilidade intraespecífica.

Os acessos nº 1 e 2 de *S. emerus* foram classificados em grupos distintos nas análises com dados morfológicos e agronômicos, mas foram alocados no mesmo grupo na análise com dados de isoenzimas, comprovando a identificação de ambos como pertencentes à mesma espécie, apesar das diferenças morfológicas e agronômicas marcantes observadas entre ambos.

A espécie *S. virgata*, do subgênero *Daubentonia*, originária do Novo Mundo, foi classificada em grupos bem divergentes nas análises com dados morfológicos e de isoenzimas, apresentando caracteres morfológicos bem contrastantes com relação às demais espécies, bem como padrões de bandas de isoenzimas característicos da espécie.

A diferenciação de *S. tetraptera*, única representante do subgênero *Pterosessbania* e nativa da África, classificada em grupos distintos nas análises com dados de plântulas, dados morfológicos de plantas adultas e dados bioquímicos, ocorreu devido unicamente ao caráter largura da vagem para os dados morfológicos, o que segundo Monteiro (1984) é o único caráter que diferencia *S. tetraptera* das espécies do subgênero *Sesbania*, por apresentarem vagens aladas. No estudo de morfologia de plântulas, esta espécie apresentou os maiores números de pares de folíolo do metáfilo 2 e comprimento do hipocótilo, e a menor largura do eófilo 1. Quanto ao padrão de bandas isoenzimáticas, esta espécie diferiu das demais para todos os sistemas isoenzimáticos avaliados.

A única representante do subgênero *Agati* neste estudo, *S. grandiflora*, também foi classificada em grupos distintos nas análises de agrupamento com dados de plântulas e de isoenzimas, apresentando os menores comprimento do hipocótilo, comprimento do epicótilo e altura da planta nas quatro avaliações. Esta espécie também apresentou menor altura da planta no florescimento, seis meses após a semeadura. Citada na literatura como de grande potencial como forrageira juntamente

com a *S. sesban*, não se mostrou adaptada às condições de Nova Odessa, SP, apresentando crescimento inicial bastante lento e não florescendo, impossibilitando a colheita de sementes. Tal conclusão, no entanto, é um pouco limitada se considerarmos que apenas um acesso de *S. grandiflora* foi avaliado.

De um total de 26 caracteres morfológicos e agronômicos avaliados em plantas adultas, foram selecionados oito caracteres, sendo quatro morfológicos (início de florescimento, comprimento da vagem, comprimento da folha e número de pares de folíolos) e quatro agronômicos (produção de matéria seca de folhas, produção de sementes, vigor e altura de rebrota). Os mesmos apresentam importância tanto do ponto de vista taxonômico como do ponto de vista agronômico. Os 18 caracteres descartados mostraram-se significativamente correlacionados com os caracteres selecionados, exceto comprimento da inflorescência e proteína bruta, sendo, portanto, redundantes e pouco informativos.

As heterozigosidades médias esperadas variaram de 0,0 a 0,232 para *S. sesban* e de 0,0 a 0,200 para *S. virgata*, o que está de acordo com os valores de heterozigosidade citados na literatura para leguminosas arbustivas e arbóreas. O número médio de alelos por loco polimórfico foi dois alelos para ambas as espécies. Índices de fixação intrapopulacionais negativos e próximos de um, -0,9569 e -0,9685, obtidos para os acessos nº 9 e nº 10 de *S. sesban*, indicam excesso de heterozigotos, o que resulta provavelmente de um efeito de seleção. Os acessos nº 12 e nº 14 de *S. sesban* mostraram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Cinco progênies avaliadas do acesso nº 12, de um total de 17, apresentaram excesso de heterozigotos e somente uma progênie do acesso nº 14 apresentou excesso de homozigotos. Observou-se também uma situação de alogamia parcial para este acesso, indicado pelas taxas de cruzamento aparente estimadas.

Os índices de diversidade propostos por Nei (1973), com relação às freqüências alélicas obtidas, indicam que 62,6% da variação total observada para *S. sesban* foi devida à variação entre os acessos avaliados, enquanto que para *S. virgata*, 69,3% da variação total foi devido à variação entre acessos. Tais estimativas condizem com o provável modo de reprodução por alogamia parcial, onde deve estar existindo alta taxa de autofecundação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A.C.; PETERS, I.; BRUNE, W. et al. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa: SIF, 1991. 242p.
- ARROYO, M.T.K. Breeding systems and pollination biology in Leguminosae. In: POLHILL, R.M.; RAVEN, P.H. (Ed.) **Advances in legume systematics**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. p.723-769.
- BAIRIGANJAN, G.C.; PATNAIK, S.N. Chromosomal evolution in Fabaceae. **Cytologia**, v.54, p.51-64, 1989.
- BATISTA, L.A.R.; GODOY, R. Variabilidade interespecífica em *Paspalum notatum* Flüggé. **Revista Brasileira de Genética**, v.20, n.3, p.323, 1997. Suplemento. /Apresentado ao 43. Congresso Nacional de Genética, Goiânia, 1997 - Resumo/.
- BISHT, R.P.; TOKY, O.P. Production of biomass in *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit and *Sesbania sesban* (L.) Merr. under a short rotation cycle. **Nitrogen Fixing Tree Research Reports**, v.7, p.1-2, 1989.
- BLUMENTHAL, M.J.; O'ROURKE, P.K.; HILDER, T.B. et al. Classification of the Australian collection of the legume *Macrotyloma*. **Australian Journal of Agriculture Research**, v.40, p.591-604, 1989.
- BRAY, R.A. Diversity within tropical tree and shrub legumes. In: GUTTERIDGE, R.C.; SHELTON, H.M. (Ed.) **Forage tree legumes in tropical agriculture**. Wallingford: CAB INTERNATIONAL, 1994. cap. 3, p.111-119.

- BRAY, R.A.; SANDS, D.P.A. Arrival of the *Leucaena* psyllid in Australia: impact, dispersal and natural enemies. **Leucaena Research Reports**, v.7, p.61-66, 1987.
- BRAY, R.A., PALMER, B.; IBRAHIM, T.M. Performance of shrub legumes at four sites in Indonesia and Australia. **Tropical Grasslands**, v.31, n.1, p.31-39, 1997.
- BREWBAKER, J.L. Breeding systems and genetic improvement of perennial sesbanias. In: MACKLIN, B. ; EVANS, D.O (Ed.) **Perennial *Sesbania* species in agroforestry systems**. Waimanalo: Nitrogen Fixing Tree Association, 1990. p.39-44.
- BREWBAKER, J.L.; MACKLIN, B.; EVANS, D.O. The perennial Sesbanias. In: EVANS, D.O.; MACKLIN, B. (Ed.) **Perennial *Sesbania* production and use**. Waimanalo: Nitrogen Fixing Tree Association, 1990. p. 6-12.
- BREWBAKER, J.L.; UPADHYA, M.D.; MAKINEN, J. et al. Isoenzyme polymorphism in flowering plants; III. Gel electrophoretic methods and applications. **Physiologia Plantarum**, v.21, p.930-940, 1968.
- BREWER, G.J.; SING, C.F. **An introduction to isozyme techniques**. New York: Academic Press, 1970. 186p.
- CARULLI, J.P.; FAIRBROTHERS, D.E. Allozyme variation in three eastern United States species of *Aeschynomene* (Fabaceae), including the rare *A. virginica*. **Systematic Botany**, v.13, n.4, p.559-566, 1988.
- CARVALHO, M.M. Aproveitamento da arborização em pastagens. **Balde Branco**, n.359, p. 32-33, 1994.
- CHAMBERLAIN, J.R.; HUGHES, C.E.; GALWEY, N.W. Patterns of isozyme variation in the *Leucaena shannonii* alliance (Leguminosae:Mimosoideae). **Silvae Genetica**, v.45, n.1, p.1-7, 1996.

- CHOW, K. H.; CROWDER, L.V. Putative parents of a *Desmodium* selection examined morphologically and by isozyme patterns. **Botanical Gazette**, v.135, n.3, p.180-184, 1974.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1994. cap. 6, p.277-314: Divergência genética.
- DAHER, R.F.; MORAES, C.F.de; CRUZ, C.D. et al. Seleção de caracteres morfológicos discriminantes em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.2, p.247-254, 1997.
- DANA, S.K.; DATTA, R.M. Comparative cytological studies of the pollen and pollen-tubes in diploid and tetraploid species of *Sesbania*. **The New Phytologist**, v.60, n.3, p.295-311, 1961.
- DANIEL, J.N. Management of short-duration perennials (*Cajanus cajan*, *Sesbania sesban*, and *S. grandiflora*) in Tamil Nadu, India. **Forest, Farm and Community Tree Research Reports**, v.1, p.10-15, 1996.
- DIAS-FILHO, M.B.; SIMÃO NETO, M.; SERRÃO, E.A. S. Cluster analysis for assessing the agronomic adaptation of *Panicum maximum* Jacq. accessions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, n.10, p.1509-1516, 1994.
- DUCKE, A. **Notas sobre a flora neotrópica - II. As leguminosas da Amazônia Brasileira**. 2.ed. Belém: Instituto Agrônômico do Norte, 1949. 248p. (Boletim Técnico, 18)
- DUKE, J.A.; POLHILL, R.M. Seedlings of Leguminosae. In: POLHILL, R.M.; RAVEN, P. H. (Ed.) **Advances in legume systematics** Part II. Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. p.941-949.

- ELLA, A.; JACOBSEN, C.; STUR, W.W. et al. Effect of plant density and cutting frequency on the productivity of four tree legumes. **Tropical Grasslands**, v.23, n.1, p.28-34, 1989.
- EVANS, D.O.; Perennial species of *Sesbania*. **Nitrogen Fixing Tree Research Reports**, v.6, p.73-75, 1988.
- EVANS, D.O. What is *Sesbania*? Botany, taxonomy, plant geography, and natural history of the perennial members of the genus. In: MACKLIN, B. ; EVANS, D. O. (Ed.) **Perennial *Sesbania* species in agroforestry systems**. Waimanalo: Nitrogen Fixing Tree Association, 1990. p.5-16.
- EVANS, D.O.; ROTAR, P.P. Productivity of *Sesbania* species. **Tropical Agriculture**, v.64, n.3, p.193-200, 1987.
- FORNI-MARTINS, E.R.; FRANCHI-TANIBATA, M.; CARDELLI-DE-LUCENA, M.A. Karyotypes of species of *Sesbania* Scop. (Fabaceae). **Cytologia**, v.59, p.479-482, 1994.
- FRAHM-LELIVELD, J.A. Some chromosome numbers in tropical leguminous plants. **Euphytica**, v.2, p.46-48, 1953.
- FRANCO, A.A.; MONTEIRO, R.; FARIA, S.M. Regional field experience with *Sesbania* species in Latin America. In: MACKLIN, B. ; EVANS, D. O. (Ed.) **Perennial *Sesbania* species in agroforestry systems**. Waimanalo: Nitrogen Fixing Tree Association, 1990. p.151-158.
- GERALDI, I. O. Estimação de parâmetros genéticos de caracteres do pendão em milho (*Zea mays* L.) e perspectivas de melhoramento. Piracicaba, 1977. 103p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

- GHAJ, S.K.; BATRA, L.; RAO, D.L.N. Tree type *Sesbania* germplasm of CSSRI: some observations at early growth stage in an alkali soil. **Nitrogen Fixing Tree Research Reports**, v.3, p.13-14, 1985.
- GHISI, O.M.A.A.; VEASEY, E.A.; OTSUK, I.P. Avaliação e seleção de acessos de *Neonotonia wightii* com utilização de análise multivariada. **Boletim de Indústria Animal**, v.51, n.1, p.77-85, 1994.
- GILLET, J.B. *Sesbania* in Africa (excluding Madagascar) and southern Arabia. **Kew Bulletin**, v.17, n.1, p.91-159, 1963.
- GRAY, S.G. The place of trees and shrubs as sources of forage in tropical and subtropical pastures. **Tropical Grasslands**, v.4, p.57-62, 1970.
- GUTTERIDGE, R.C. Agronomic evaluation of tree and shrub species in southeast Queensland. **Tropical Grasslands**, v.24, n.1, p.29-34, 1990.
- GUTTERIDGE, R.C. The perennial *Sesbania* species. In: GUTTERIDGE, R.C.; SHELTON, H.M. (Ed.) **Forage tree legumes in tropical agriculture**. Wallingford: CAB INTERNATIONAL, 1994. cap. 2, p.49-64.
- GUTTERIDGE, R.C.; AKKASAENG, R. Evaluation of nitrogen fixing trees in Northeast Thailand. **Nitrogen Fixing Tree Research Reports**, v.3, p.46-47, 1985.
- GUTTERIDGE, R.C.; TOPARK-NGARM, A. Fodder. In: EVANS, D.O.; MACKLIN, B. (Ed.) **Perennial Sesbania production and use**. Waimanalo: Nitrogen Fixing Tree Association, 1990. p.17-19.
- GUTTERIDGE, R.C.; SHELTON, H.M.; ORAM, R.N. Register of Australian herbage plant cultivars. B. Legumes. 24. Sesban (a) *Sesbania sesban* (L.) Merrill (sesban) cv. Mount Cotton. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.35, p.561, 1995.

- HAMRICK, J.L. Isozyme and the analysis of genetic structure in plant populations. In: SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S. (Ed.) **Isozymes in plant biology**. London: Chapman and Hall, 1990. Cap.4, p. 87-105.
- HANSEN, E.H.; MUNNS, D.N. Screening of *Sesbania* species for NaCl tolerance. **Nitrogen Fixing Tree Research Reports**, v.3, p.60-61, 1985.
- HARRIS, P.J.C.; MOORE, T.H.M.; PUDDEPHAT, I.J. Micropropagation of *Sesbania sesban*. **Nitrogen Fixing Tree Research Reports**, v.7, p.123-125, 1989.
- HARRIS, S.A.; HUGHES, C.E.; ABBOTT, R.J. et al. Genetic variation in *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. (Leguminosae:Mimosoideae). **Silvae Genetica**, v.43, n.2-3, p.159-167, 1994.
- HEERING, J.H. The reproductive biology of three perennial *Sesbania* species (Leguminosae). **Euphytica**, v.74, p.143-148, 1994.
- HEERING, J.H. The effect of cutting height and frequency on the forage, wood and seed production of six *Sesbania sesban* accessions: productivity of *Sesbania sesban* accessions under irrigated conditions. **Agroforestry Systems**, v.30, n.3, p.341-350, 1995.
- HEERING, J.H.; HANSON, J. Karyotype analysis and interspecific hybridisation in three perennial *Sesbania* species (Leguminosae). **Euphytica**, v.71, p.21-28, 1993.
- HEERING, J.H.; NOKOE, S.; MOHAMMED, J. The classification of a *Sesbania sesban* (ssp. *sesban*) collection. I. Morphological attributes and their taxonomic significance. **Tropical Grasslands**, v.30, n.2, p.206-214, 1996a.
- HEERING, J.H.; NOKOE, S.; MOHAMMED, J. The classification of a *Sesbania sesban* (ssp. *sesban*) collection. II. Agronomic attributes and their relation to biomass estimation. **Tropical Grasslands**, v.30, n.2, p.215-222, 1996b.

- HEERING, J.H.; REED, J.D.; HANSON, J. Differences in *Sesbania sesban* accessions in relation to their phenolic concentration and HPLC fingerprints. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.71, n.1, p.92-98, 1996c.
- JAIN, S.K.; SINGH, R.S. Population biology of *Avena*. VII. Allozyme variation in relation to the genome analysis. **Botanical Gazette**, v. 140, n.3, p.356-362, 1979.
- JOLLIFFE, I.T. Discarding variables in a principal component analysis. I Artificial data. **Applied Statistics**, v.21, n.2, p 160-173, 1972.
- JOLLIFFE, I.T. Discarding variables in a principal component analysis. I Real data. **Applied Statistics**, v.21, n.1, p 21-31, 1973.
- JOSHUA, D.C.; BHATIA, C.R. Karyotype analysis in *Sesbania* species. **The Nucleus**, v.32, n.3, p.161-163, 1989.
- JOSHUA, D.C.; RAMANI, S. Na induced mutant with extended vegetative phase in stem nodulating *Sesbania rostrata*. **Journal of Agricultural Science**, v.120, p.71-73, 1993.
- KAMARA, C.S.; MAGHEMBE, J.A. Performance of multipurpose tree and shrub species 28 months after planting at Chalimbana, Zambia. **Forest Ecology and Management**, v.64, p.145-151, 1994.
- KARACHI, M.; LEMA, N.; SABAS, E. et al. Growth, biomass production and plant mortality of seven *Sesbania sesban* var. *nubica* and three *Sesbania macrantha* accessions at Tumbi, Tanzania. **Forest Ecology and Management**, v. 64, p. 153-159, 1994.
- KUMAR, S.; TAMURA, K.; NEI, M. **MEGA - molecular evolutionary analysis**. Institute of Molecular Evolutionary Genetics, University Park: Pennsylvania State University, 1993.

- LEITÃO FILHO, H. de F., ARANHA, C.; BACCHI, O. **Plantas invasoras de culturas**. São Paulo: HUCITEC/Ministério da Agricultura, 1975. v. 2, 597p.
- LOURENÇO, A.J.; CARRIEL, J.M.; BEISMAN, D.A. Desempenho de bovinos Nelore em pastagens de *Brachiaria brizantha* associada à *Leucaena leucocephala*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., Fortaleza, 1996. **Anais**. Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1996. v.2, p.10-12.
- LOVATO, M.B.; MARTINS, P.S. Genetic variability in salt tolerance during germination of *Stylosanthes humilis* H.B.K. and association between salt tolerance and isozymes. **Revista Brasileira de Genética**, v.20, n.3, p.435-441, 1997.
- MAASDORP, B.V.; GUTTERIDGE, R.C. Effect of fertilizer and weed control on the emergence and early growth of five leguminous fodder shrubs. **Tropical Grasslands**, v.20, n.3, p.127-134, 1986.
- MACARTHUR, R.H.; WILSON, E.O. **The theory of island biogeography**. Princeton: University Press, 1967. 203p.
- MACKLIN, B.; YAMOA, C.; RAO, D.L.N. et al. Soil improvement and alley farming. In: EVANS, D. O.; MACKLIN, B. (Ed.) **Perennial *Sesbania* production and use**. Waimanalo: Nitrogen Fixing Tree Association, 1990. p.22-25.
- MARCON, G. Estrutura genética de populações de *Stylosanthes humilis* H.B.K. (Leguminosae) de tres regiões ecogeográficas do Estado de Pernambuco. Piracicaba, 1988. 179p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- MARDIA, K.V.; KENT, J.T.; BIBBY, J.M. **Multivariate analysis**. London: Academic Press, 1979. 521p.
- MENGISTU, S. Report of a survey and collection mission for *Sesbania* germplasm in Tanzania. **PGRC/E-ILCA Germplasm Newsletter**, v.16, p.3-14, 1990.

- MICROCAL SOFTWARE. **Microcal origin version 3.54** (software). Northampton: Microcal Software, Inc., 1994.
- MONTEIRO, R. Taxonomic studies on Brazilian legumes with forage potential: *Sesbania*, *Lupinus*. St. Andrews, 1984. 446p. Thesis (Ph.D.) - University of St. Andrews.
- MUGWIRA, L.M.; HAQUE, I. Screening forage and browse legumes germplasm to nutrient stresses: III. Tolerance of *Sesbania* to aluminium and low phosphorus in soils and nutrient solution. **Journal of Plant Nutrition**, v.16, n.1, p.51-66, 1993.
- NDOYE, I.; TOMEKPE, K.; DREYFUS, B. et al. *Sesbania* and *Rhizobium* symbiosis: nodulation and nitrogen fixation. In: MACKLIN, B. ; EVANS, D.O. (Ed.) **Perennial *Sesbania* species in agroforestry systems**. Waimanalo: Nitrogen Fixing Tree Association, 1990. p.31-38.
- NDUNGU, J.N.; BOLAND, D.J. *Sesbania* seed collections in Southern Africa. Developing a model for collaboration between a CGIAR Centre and NARS. **Agroforestry Systems**, v.27, n.2, p.129-143, 1994.
- NDUNGU, J.N.; LLEWELLYN-SMITH, R.; BOLAND, D.J. Collecting *Sesbania* spp. germplasm in the vicinity of Nairobi, Kenya. **Forest Genetic Resources**, v.22, p.43-48, 1994.
- NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 70, n.12, p.3321-3323, 1973.
- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v. 89, p. 583-590, 1978.
- OWUOR, B. O; OWINO, F. Control pollination and pollen management in *Sesbania sesban* (L.) Merr. **Euphytica**, v.70, p.161-165, 1993.

- PARIHAR, R.S.; ZADOO, S.N. Cytogenetical studies on the genus *Sesbania* Scop. I. Karyotype. **Cytologia**, v.52, n.3, p.507-512, 1987.
- PATIL, B.D.; GILL, A.S. Shevri, a multipurpose shrub. **Indian Farming**, v.35, n.10, p.24-25, 1986.
- PENTEADO, M.I. de O.; GARCIA, P.; PÉREZ DE LA VEJA, M. Isozyme markers and genetic variability in three species of *Centrosema* (Leguminosae). **Revista Brasileira de Genética**, v.20, n.3, p.443-452, 1997.
- PETER, K.V.; DEVADAS, V.S. Leafy vegetables. **Indian Horticulture**, v.33/34, n.4/1, p.8-11, 1989.
- PLUMB, V.E.; WOOD, C.D.; GAY, C. et al. The use of HPLC-derived phenolic profiles as a means of classifying *Sesbania* accessions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.70,n.4, p.481-486, 1996.
- POOLPIPATANA, S.; HUE, N.V. Differential acidity tolerance of tropical legumes grown for green manure in acid sulfate soils. **Plant and Soil**, v.163, n.1, p.131-139, 1994.
- RAYMOND, P.; ROUSSET, F. GENEPOP (Version 1.2): A population genetics software for exact tests and ecumenism. **Journal of Heredity**, v.86, n.3, p.248-249, 1995.
- REIS, M.S. Autoecologia de diferentes espécies de *Stylosanthes* Sw.: Análise da alocação de energia e estudos da biologia da semente. Piracicaba, 1984. 170p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- REIS, M.S. dos Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmitreiro (*Euterpe edulis* Martius). Piracicaba, 1996. 210p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

- ROCHA, G.L.R.; LEITÃO FILHO, H.de F.; ANDRADE, J.B. et al. Coleta, identificação e distribuição de leguminosas forrageiras tropicais brasileiras - Brasil Central - Fase I. **Boletim de Indústria Animal**, v.36, n.2, p.255-324, 1979.
- SALIMUDDIN; RAMESH, B. Karyological studies in the genus *Sesbania*. **Cytologia**, v.58, p.241-246, 1993.
- SANDYS-WINSCH, D.C.; HARRIS, P.J.C. Agroforestry and forestry on the Cape Verde Islands. **Agroforestry Systems**, v.19, n.1, p.79-91, 1992.
- SANTOS, C.A.F.; OLIVEIRA, C.A.V.; MENEZES, E.A. Seleção de descritores na caracterização e avaliação preliminar de germoplasma de guandu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.30, n.7, p.971-975, 1995.
- SARASWATI, R.; MATOH, T.; SASAI, T. et al. Identification of *Sesbania* species from electrophoretic patterns of seed proteins. **Tropical Agriculture**, v.70, n.3, p.282-285, 1993.
- SAS INSTITUTE Inc. **SAS/STAT user's guide for personal computers, version 6**. 3.ed. Cary, 1993. 889p.
- SCANDALIOS, J.G. Genetic isozyme variations in *Zea mays*. Honolulu, 1965. 95p. Thesis (Ph.D.) - University of Hawaii.
- SEDI, Y.; HUMPHREYS, L.R. Temperature, daylength and the flowering and seed production of *Sesbania sesban* and *S. cannabina*. **Tropical Grasslands**, v.26, p.100-110, 1992.
- SHELTON, H.M.; LOWRY, J.B.; GUTTERIDGE, R.C. et al. Sustaining productive pastures in the tropics. 7. Tree and shrub legumes in improved pastures. **Tropical Grasslands**, v.25, p.119-129, 1991.

- SIMPSON, M.J.A.; WITHERS, L.A. **Characterization of plant genetic resources using isozyme electrophoresis: a guide to the literature**. Rome: International Board For Plant Genetic Resources, 1986. 102p.
- SOLTIS, D.E.; HAUFLER, C.H.; DARROW, D.C. et al. Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. **American Fern Journal**, v. 73, p.9-27, 1983.
- SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.E. (Ed.) **Isozymes in plant biology**. London: Chapman and Hall, 1990. 268p.
- SOUSA, M.; SOUSA, M.P. New World Lonchocarpaceae. In POLHILL, R.M.; RAVEN, P. H. (Ed.) **Advances in legume systematics**, Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. v.1, p.261.
- STAT SOFT Inc. **Statistica for Windows. Release 4.3** (software), 1993.
- STEBBINS, G.L. **Chromosomal evolution in higher plants**. London: Edward Arnold Publishers, 1971. 216p.
- STRAPASSON, E. Seleção de descritores na caracterização de germoplasma de *Paspalum* através de componentes principais. Piracicaba, 1997. 95p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- TOMEKPE, K.; DOMMERGUES, Y.R.; GILLSIS, M. et al. Stem nodule forming Rhizobia and *Sesbania* green manure crop. In: DUTTA, S.K.; SLOGER, C. (Ed.) **Biological nitrogen fixation associated with rice production**. New Delhi: Oxford:IBH, 1991.
- TORGGLER, M.G.F.; CONTEL, E.P.B.; TORGGLER, S.P. **Isoenzimas: variabilidade genética em plantas**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1995. 186p.

- TSUHAKE, M.H.; SANTOS, M.; HARAGUCHI, M. et al. Presença de princípios ativos tóxicos nas sementes da leguminosa *Sesbania virgata*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.56, n.1/2, p.27-29, 1989.
- VAL, A.L.; SCHWANTES, A.R.; SCHWANTES, M.L.B. et al. Amido hidrolisado em milho como suporte eletroforético. **Ciência e Cultura**, v.33, p.992-996, 1981.
- VEASEY, E.A.; VALARINI, M.J. Stem nodulation and N₂ fixation in *Sesbania rostrata*. **Ciência e Cultura**, v.49, n.4, p.258-263, 1997.
- VEASEY, E.A.; GHISI, O. A.A.; CARDELLI, M.A. et al. Evaluation of shrub and tree legumes in Brazil. **Nitrogen Fixing Tree Research Reports**, v.13, p.1-5, 1995.
- VEASEY, E.A.; GUIZI, O.M.A.A.; VALARINI, M.J. et al. Early growth and native nodulation of leguminous shrub and tree species in Brazil. **Tropical Grasslands**, v.31, n.1, p.40-48, 1997.
- VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496p.
- WANDERA, F.P.; DZOWELA, B.H.; KARACHI, M.K. Production and nutritive value of browse species in semi-arid Kenya. **Tropical Grasslands**, v.25, n.4, p.349-355, 1991.
- WARNER, R.E. The genus *Eudiatrogus* (Coleoptera: Curculionidae: Leptopiinae), with two new species on the weed *Sesbania* (Leguminosae). **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, v.81, n. 2, p. 304-320, 1979.
- WEIR, B.S. **Genetic data analysis II. Methods for discrete population genetic data**. 2.ed. Sunderland: Sinauer Associates, 1996. 445p.
- WENDEL, J.F.; WEEDEN, N.F. Visualization and interpretation of plant isozymes. In: SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S. (Ed.) **Isozymes in plant biology**. London: Chapman and Hall, 1990. cap.1, p. 5-45.

WOOD, I.M.; LARKENS, A.G. Agronomic and phenological data for a collection of *Sesbania* species grown in Southeast Queensland, Australia. **Genetic Resources Communication**, n.11, 1987. 13p.

WRIGHT, S. Systems of mating. **Genetics**, v.6, p.111-178, 1921.

WRIGHT, S. **Evolution and the genetics of populations**, Chicago: University of Chicago Press, 1978. v.4: Variability within and among natural populations.

APÊNDICE 1. Descrição das abreviaturas utilizadas no presente estudo.

APL	altura da planta	NPF	número de pares de folíolos
ACP	fosfatase ácida	NSV	número de sementes por vagem
AFL	altura da planta no florescimento (6 meses após a semeadura)	P1	persistência avaliada nas plantas não cortadas (2 anos e 4 MAS)
AP	altura da planta (18 meses após a sem.)	P2	persistência avaliada nas plantas cortadas (2 anos e 4 MAS)
AP/D	altura da planta/dia	PB/D	porcentagem de proteína bruta na fração folha/dia
AR/D	altura de rebrota/dia	PB1	porcentagem de proteína bruta na fração folhas do 1º corte
CAT	catalase	PB2	porcentagem de proteína bruta na fração folhas do 2º corte
CE1	comprimento do eófilo 1	PB3	porcentagem de proteína bruta na fração folhas do 3º corte
CEP	comprimento do epicótilo	PB4	porcentagem de proteína bruta na fração folhas do 4º corte
CF	comprimento da folha	PGI	fosfoglucomutase isomerase
CFL	comprimento da flor	PGM	fosfoglucomutase
CFOLI	comprimento do folíolo	PMSF/D	produção de matéria seca de folhas/dia
CH	comprimento do hipocótilo	PMSF1	produção de matéria seca de folhas do 1º corte (abril/95)
CI	comprimento da inflorescência	PMSF2	produção de matéria seca de folhas do 2º corte (agosto/95)
CM	tampão citrato-morfolina	PMSF3	produção de matéria seca de folhas do 3º corte (dezembro/95)
CP	comprimento do pedúnculo	PMSF4	produção de matéria seca de folhas do 4º corte (abril/96)
CS	comprimento da semente	PMSH/D	produção de matéria seca de hastes/dia
CVAG	comprimento da vagem	PMSH1	produção de matéria seca de hastes do 1º corte (abril/95)
DC	diâmetro do caule	PMSH2	produção de matéria seca de hastes do 2º corte (agosto/95)
<i>f</i>	índice de fixação (coef. de Wright)	PMSH3	produção de matéria seca de hastes do 3º corte (dezembro/95)
GOT	glutamato-oxaloacetato transaminase	PMSH4	produção de matéria seca de hastes do 4º corte (abril/96)
Gst	diversidade entre populações	PRS	produção de sementes
H	tampão histidina	PRX	peroxidase
He	heterozigosidade média esperada	Rf	mobilidade relativa
Ho	heterozigosidade média observada	SGR	porcentagem de sementes granadas
HPLC	cromatografia líquida de alta resolução	<i>ta</i>	taxa de cruzamento
Hs	diversidade dentro de populações	TC	tampão tris-citrato
Ht	diversidade total da espécie	UPGMA	unweighted pair group method of arithmetic average
IDH	isocitrato desidrogenase	V	vigor
IFL	início do florescimento	VR	vigor de rebrota
IFR	início da frutificação		
LB	tampão lítio-borato		
LE1	largura do eófilo 1		
LFOLI	largura do folíolo		
LS	largura da semente		
LVAG	largura da vagem		
MDH	malato desidrogenase		
MS	matéria seca		
NFL	número de flores		