

Capítulo 6

Genética Quantitativa e Métodos de Melhoramento em Alfafa

*Reinaldo de Paula Ferreira
Daniel Horacio Basigalup
Edmar Soares de Vasconcelos
Cosme Damião Cruz
Antonio Vander Pereira*

PROCI-2008.00231
FER
2008
SP-PP-2008.00231

Genetica quantitativa e metodos
2008 SP-PP-2008.00231



CPPSE-18204-1 - 18204-1

Introdução

O processo de intensificação da produção de leite a pasto constitui um importante objetivo do setor leiteiro que visa tornar a atividade competitiva e economicamente rentável. Contudo, o uso de forrageiras de má qualidade e o elevado custo dos alimentos concentrados têm sido apontados como os principais fatores responsáveis pela baixa produtividade leiteira. Uma das alternativas mais econômicas de melhorar a nutrição do rebanho leiteiro é a utilização de forrageiras mais produtivas e de melhor qualidade. Entre as forrageiras de maior potencial para a intensificação da produção de leite destaca-se a alfafa, por apresentar elevada produtividade, excelente qualidade de forragem e boa aceitabilidade pelo animal, sendo, por isso, indicada para vacas de alto potencial genético para produção de leite (VILELA, 1998).

Um dos obstáculos à expansão da cultura da alfafa no País é a falta de cultivares adaptadas às condições tropicais. Para se ter idéia da dimensão desse problema, atualmente a única cultivar de alfafa com boa adaptabilidade e estabilidade no Brasil é a Crioula, havendo grande demanda por novos lançamentos no mercado (FERREIRA et al., 2004).

O desenvolvimento de novas cultivares de alfafa, com boa adaptabilidade e estabilidade, possibilitará o seu cultivo em diferentes regiões do País, com conseqüente incremento da área de exploração, assegurando, dessa forma, alimento de alta qualidade e de alta produtividade nos sistemas intensivos de produção de leite (BOTREL et al., 2001).

A expansão de uma cultura exótica introduzida depende da adaptação às condições do novo ambiente. Cultivares oriundas de regiões temperadas, como é o caso da alfafa, normalmente apresentam problemas de adaptação aos trópicos, uma vez que as pressões de seleção, exercidas durante o processo de melhoramento, não incluíram a sua adaptação ao ambiente tropical (FERREIRA e PEREIRA, 2005).

O melhoramento genético constitui ferramenta útil para criar cultivares melhoradas e adaptadas, a partir de variedades exóticas, utilizando a variabilidade existente no germoplasma da espécie. Com a recombinação apenas dos acessos selecionados, aumenta-se a frequência de alelo favorável na população, havendo, assim, maior possibilidade de se obter ganhos efetivos de seleção no melhoramento da espécie (ALLARD, 1971).

Sistema reprodutivo

A alfafa é uma planta perene, autotetraplóide ($2n = 4X = 32$), com flores perfeitas e fecundação preponderantemente alógama, tendo, ainda, mecanismo de autoesterilidade e autoincompatibilidade (VIANDS et al., 1988).

A polinização natural é realizada por abelhas e também por besouros. Estes devem visitar diferentes flores, já que a espécie apresenta autoincompatibilidade, mecanismo que força a polinização cruzada entre as plantas de alfafa.

A alfafa é uma espécie polimórfica, com organismos diplóides e tetraplóides. O seu número básico de cromossomos é igual a oito. Por se tratar de organismo autotetraplóide, a herança dos caracteres em alfafa é complexa, o que afeta seu comportamento genético e condiciona à utilização de alguns métodos específicos de melhoramento.

Genética quantitativa da alfafa

Os métodos biométricos utilizados pelos melhoristas visando melhorar características relacionadas à produção e qualidade da alfafa são baseados no modo de produção e reprodução da espécie, além da sua estrutura genética. A herança dos caracteres em alfafa é complexa, por se tratar de um organismo autotetraplóide que produz gametas diplóides, o que afeta profundamente o comportamento genético desta forrageira.

Segregação e formação de gametas

As discussões que seguem assumem as pressuposições de que a segregação cromossômica em alfafa é aleatória, ignorando a existência de dupla redução, de pareamento preferencial e a não disjunção dos cromossomos.

Desses, apenas o pareamento preferencial pode trazer desvios significativos para o esperado na teoria. Contudo, outros fenômenos como polinização preferencial de flores por insetos, taxa de crescimento diferencial do tubo polínico, incompatibilidade, esterilidade e aborto de óvulos fertilizados podem causar desvios nos resultados esperados (BUSBICE et al., 1972).

Para um gene que possui quatro alelos (tetraplóide), podem ser observados cinco possíveis genótipos: o primeiro possuidor de quatro alelos dominantes (AAAA) denominado "quadruplex", o segundo com três alelos dominantes (AAAa) ou "triplex", o terceiro com dois alelos dominantes (AAaa) ou "duplex", o quarto com apenas um alelo dominante (Aaaa) ou "simplex" e o quinto sem alelos dominantes (aaaa) ou "nuliplex" (BLAKESLEE et al., 1923).

Para dominância completa, o caráter dominante será observado quando apenas um alelo dominante for observado, assim o caráter recessivo será observado apenas no nulíplex. Contudo, foram reportados em alfafa que o fenótipo de dominância é expresso somente quando existem dois ou mais alelos dominantes presentes (PEDERSEN e BARNES, 1965; WHITTINGTON e BUBRAGE, 1963).

Os indivíduos tetraplóides podem produzir diferentes gametas com diferentes probabilidades, conforme apresentado na Tabela 1. Indivíduos AAAA produziram apenas gametas AA com probabilidade igual a 1, diferente de genótipos AAaa que podem produzir três diferentes tipos de gametas diplóides: AA com probabilidade 1/6, Aa com probabilidade 4/6 e aa com probabilidade 1/6.

Tabela 1. Probabilidade de gametas produzidos por indivíduos tetraplóides de diferente constituição genotípica (segregação cromossômica)

Genótipos indivíduos	Gametas diplóides		
	AA	Aa	aa
AAAA	1	0	0
AAAa	1/2	1/2	0
AAaa	1/6	4/6	1/6
Aaaa	0	1/2	1/2
aaaa	0	0	1

A partir destas probabilidades, é possível obter o número de indivíduos a serem avaliados em diferentes cruzamentos para se ter uma dada certeza da constituição genotípica de um genótipo. Por exemplo, famílias produzidas por autofecundação de um indivíduo duplex (AAaa) geram nulíplex com probabilidade de 1/36 ($1/6 \times 1/6$).

Se, ao invés de se autofecundar o indivíduo, for realizado o cruzamento teste, a probabilidade de obtenção do nulíplex é de 1/6 (probabilidade de obtenção do gameta aa produzido pelo duplex). Dessa forma, para uma certeza de 95 %, devem ser avaliadas 107 progênies da autofecundação, enquanto no cruzamento teste é necessário avaliar apenas 17 progênies para se obter a mesma probabilidade.

O conhecimento da evolução da estrutura genética em uma população autotetraplóide, sob diferentes sistemas de acasalamento, é essencial para se compreender o comportamento do melhoramento em espécies autotetraplóides. Dessa forma, pode ser estudado o equilíbrio genético da população.

O equilíbrio em uma população autotetraplóide pode ser dado pela comparação das freqüências gaméticas, produzidas pela mesma, em duas ou mais gerações.

De maneira que, quando a relação gamética da população não for alterada de uma geração para outra, a população encontra-se em equilíbrio genético.

Como exemplo, será avaliada uma população inicial com a seguinte proporção: 0,13 AAAA: 0,16 AAAa: 0,06 AAaa: 0,08 Aaaa: 0,57 aaaa. Será considerado acasalamento ao acaso. A relação genotípica dos descendentes é dada pelo quadrado da relação gamética dos pais, ou seja, pela relação genotípica dos descendentes = [Relação gamética dos pais]².

Dessa forma:

Genótipo dos pais	Frequência	Gametas diplóides dos pais		
		AA	Aa	aa
AAAA	0,13	0,13	0	0
AAAa	0,16	0,08	0,08	0
AAaa	0,06	0,01	0,04	0,01
Aaaa	0,08	0	0,04	0,04
Aaaa	0,57	0	0	0,57
Soma	1	0,22	0,16	0,62

Assim:

$$P(AA)_0 = 0,22; P(Aa)_0 = 0,16 \text{ e } P(aa)_0 = 0,62$$

Obtendo

$$\text{Relação genotípica descendentes} = (0,22 AA + 0,16 Aa + 0,62 aa)^2$$

Gerando

$$0,0484 AAAA: 0,2984 AAaa: 0,1984 Aaaa: 0,3844 aaaa$$

Na geração 1 dessa população, a sua proporção gamética será obtida conforme se segue:

Genótipo dos filhos	Frequência	Gametas diplóides dos filhos		
		AA	Aa	aa
AAAA	0,0484	0,0484	0	0
AAAa	0,0704	0,0352	0,0352	0
AAaa	0,2984	0,0497	0,1989	0,0497
Aaaa	0,1984	0	0,0992	0,0992
Aaaa	0,3844	0	0	0,3844
Soma	1	0,1333	0,3333	0,5333

Assim:

$$P(AA)_1 = 0,1333; P(Aa)_1 = 0,3333 \text{ e } P(aa)_1 = 0,5333$$

Neste caso, temos que $P(AA)_0 \neq P(AA)_1$; $P(Aa)_0 \neq P(Aa)_1$ e $P(aa)_0 \neq P(aa)_1$

Conclui-se que a população não se encontrava em equilíbrio, e o mesmo não foi atingido com uma geração de acasalamento ao acaso. Isso é uma especificidade de populações de autotetraplóides, ou seja, o equilíbrio não é alcançado com apenas

uma geração de acasalamento ao acaso, enquanto que em diplóide o equilíbrio é atingido.

Considerando-se a $f(A) = p$ e a $f(a) = q$, tem-se que no equilíbrio as populações dos cinco genótipos de uma população de autotetraplóide, em acasalamento ao acaso, são dados $(p + q)^4$. No nosso exemplo, com $f(A) = p = 0,3$ e $f(a) = q = 0,7$, obtém-se:

Genótipos	Freqüência	Freqüência genotípica no equilíbrio
AAAA	p^4	0,0081
AAAa	$4p^3q$	0,0756
AAaa	$6p^2q^2$	0,2646
Aaaa	$4pq^3$	0,4116
aaaa	q^4	0,2401

Num aspecto prático, avaliaremos a descendência de um dado cruzamento envolvendo dois indivíduos tetralélicos (indivíduos com os quatro alelos diferentes).

Indivíduos	$A_1 A_2 A_3 A_4$	x	$A_5 A_6 A_7 A_8$
Gametas possíveis	$A_1 A_2$		$A_5 A_6$
	$A_1 A_3$		$A_5 A_7$
	$A_1 A_4$		$A_5 A_8$
	$A_2 A_3$		$A_6 A_7$
	$A_2 A_4$		$A_6 A_8$
	$A_3 A_4$		$A_7 A_8$

Verifica-se a possibilidade de serem obtidos 36 possíveis genótipos para o F_1 . Contudo, todos os genótipos possíveis são tetralélicos. Se o pesquisador estiver procurando um genótipo monoalélico (indivíduo com apenas um tipo de alelos), ele não o encontrará com apenas uma geração de acasalamento entre as plantas F_1 . Dessa forma, uma característica de alotetraplóides é apresentada, ou seja, o conjunto dos genótipos monoalélicos, dialélicos (com dois tipos de alelos diferentes), trialélicos (três diferentes tipos de alelos) e tetralélicos apenas serão obtidos após duas gerações de acasalamento ao acaso.

Geração	Estrutura e suas freqüências			
	Monoalélico	Dialélico	Trialélico	Tetralélico
F_1	0	0	0	1,000
F_2	0	0,037	0,426	0,537
F_3	0,001	0,074	0,474	0,450
F_4	0,002	0,106	0,492	0,410

Fonte: Adaptado de Busbice et al. (1972).

Conforme apresentados na tabela anterior, a classe dos monoalélicos é de reduzida frequência, o que é uma outra característica dos autotetraplóides. É possível verificar, ainda, que o equilíbrio entre essas diferentes classes apenas é obtido com quatro gerações de acasalamento ao acaso.

Ganhos por seleção

Para a obtenção de genótipos superiores, é necessária a reunião de uma série de atributos favoráveis que confirmem rendimento comparativamente maior e satisfaçam as exigências do mercado. Com isso, a seleção baseada em uma ou poucas características mostra-se inadequada, conduzindo a um produto final superior apenas em relação aos caracteres selecionados (CRUZ e REGAZZI, 1997). Tal fato é de grande importância na cultura da alfafa, uma vez que se procura, no melhoramento, não só o acréscimo na produtividade mas, principalmente, aumento na qualidade e aceitabilidade da forragem produzida, além de melhoria em outras características.

Resposta à seleção

A necessidade de se realizar seleção com vistas a um conjunto de características de interesse para se obter ganhos no sentido favorável a todas elas, simultaneamente, faz com que critérios de seleção, que não sejam baseados em apenas uma característica ou na seleção indireta, sejam implementados. Hill (1971) realizou um estudo de comparação de resposta de seleção em populações diplóides e em autotetraplóides e observou que a resposta à seleção foi mais rápida em diplóide do que em autotetraplóide.

Para ilustração e comparação de ganhos obtidos por seleção em populações diplóides e tetraplóides, será considerada a resposta à seleção numa situação em que o alelo a ser selecionado é dominante e que o gene em estudo, nas duas populações (diplóide e autotetraplóide), encontra-se em equilíbrio.

Se $f(A) = p$ e $f(a) = q$, sendo "A" dominante em relação a "a" e alvo de seleção, tem-se:

$$P(A) = p \text{ e } P(a) = q \text{ em que } p + q = 1$$

A relação genotípica é estabelecida respeitando-se a equação de predição dada por: $(p+q)^4 = (p^4 \text{ AAAA}; 4p^3q \text{ AAAa}; 6p^2q^2 \text{ AAaa}; 4pq^3 \text{ Aaaa}; q^4 \text{ aaaa})$.

A seleção atuará eliminando o genótipo aaaa. Com a seleção, a frequência de p passa para p', e o efeito da seleção Δp será dado por:

$$\Delta p = p' - p$$

em que

$$p' = \frac{p^4 + 4p^3q + 6p^2q^2 + 4pq^3}{4(p^4 + 4p^3q + 6p^2q^2 + 4pq^3)} = \frac{p}{1 - q^4}$$

dessa forma tem-se:

$$\Delta p = p' - p = \frac{p}{1 - q^4} - p = \frac{pq^4}{1 - q^4}$$

Pela equação acima, Δp , que expressa a variação da frequência do alelo selecionado, é função da sua frequência inicial.

Para um diplóide, sabe-se que

$$\Delta p = p' - p = \frac{p}{1 - q^2} - p = \frac{pq^2}{1 - q^2}$$

Na Fig. 1 é encontrada a variação da frequência do alelo A selecionado com relação a sua frequência inicial (p) para uma população autopoliplóide e outra diplóide. Verifica-se que a taxa de variação na frequência gênica para tetraplóide é bem inferior à de diplóides, ilustrando a dificuldade de se promover mudanças genéticas neste tipo de organismos.

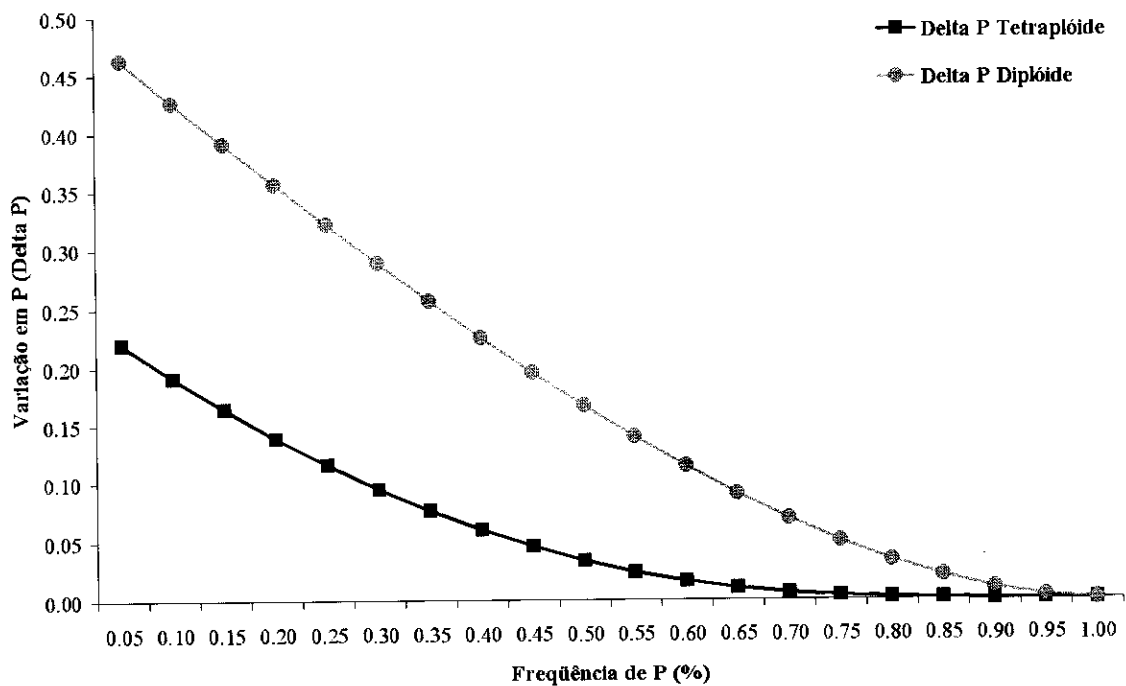


Fig. 1. Relação da variação da frequência do alelo p em relação à sua frequência inicial em populações autotetraplóide e diplóide.

Fonte: Hill (1971).

Componentes de variância genética e herdabilidade

O sucesso no melhoramento de qualquer caráter requer, obrigatoriamente, que este seja herdável e que haja variação na população em que se pretende praticar seleção. No estudo da herança e da variação de caracteres quantitativos, adota-se o modelo básico $F=G+M$, no qual o valor fenotípico (F) é estimado a partir dos dados mensurados no indivíduo e resulta da ação do genótipo (G) sob a influência do meio (M). Analogamente, a variância fenotípica (σ_F^2) é composta pela variância genotípica (σ_G^2) e pela variância atribuída aos desvios do ambiente (σ_M^2). A variância genotípica, por sua vez, é estabelecida por outros componentes.

Kempthorne (1955) apresentou que para alotetraplóide, como no caso da alfafa, a variância genotípica é dada por:

σ_G^2 : variância genotípica da população;

σ_A^2 : variância aditiva;

σ_D^2 : variância digênica;

σ_T^2 : variância trigênica; e

σ_Q^2 : variância quadrigênica.

Essas variâncias são obtidas uma vez que o valor genotípico $V(G)$ de uma determinada planta da população é dado por:

$$V(G) = A_i A_j A_k A_l = \mu + a_i + a_j + a_k + a_l + \beta_{ij} + \beta_{ik} + \beta_{il} + \beta_{jk} + \beta_{jl} + \beta_{kl} + \gamma_{ijk} + \gamma_{ijl} + \gamma_{jkl} + \delta_{ijkl}$$

em que:

A_i, A_j, A_k e A_l : são os alelos do loco em estudo;

μ : é a média da população em equilíbrio.

Os demais termos da equação expressam os efeitos que causam o desvio do valor de indivíduo em relação à média da população. Dessa forma, os componentes de variância $\sigma_A^2, \sigma_D^2, \sigma_T^2$ e σ_Q^2 correspondem aos efeitos a, β, γ e δ , respectivamente.

Basigalup e Hijano (1995) afirmam que os efeitos individuais aditivos nos tetraplóides são semelhantes aos efeitos aditivos dos modelos de diplóides. As interações de primeira ordem (efeitos digênicos) são semelhantes aos efeitos heteróticos em locos de organismos diplóides. Contudo, as interações dos efeitos trigênicos e quadrigênicos não possuem nenhuma relação com os modelos de organismos diplóides.

Existem trabalhos na literatura que estimaram a variância genética pela covariância entre parentes e propuseram um procedimento para estimar os componentes de variância genética para alfafa (LEVINGS e DUDLEY, 1963).

O esquema sugerido foi um sistema de cruzamento na forma de dialelo parcial em conjunto com uma regressão pai-filho e variância genotípica de clones. Esse esquema foi utilizado por Dudley et al. (1969) para obter os componentes de variância em alfafa para produção de matéria seca e tamanho de plantas. Nesse trabalho, foi concluído que os efeitos aditivos e digênicos apresentaram maior e menor importância, respectivamente. Já os efeitos trigênicos e quadrigênicos ou efeitos epistáticos apresentaram importância relativa em causar variação no fenótipo para essas duas características.

O estabelecimento de modelos genéticos possui grande importância na estimação dos componentes de variância e covariâncias genéticas, além das interações com o ambiente. Este, por sua vez, possui grandes implicações na estimação da herdabilidade, tanto em sentido amplo quanto restrito.

Como somente o valor fenotípico do indivíduo pode ser diretamente medido, mas é o valor genético que determina sua influência na próxima geração, deve-se avaliar a proporção da variabilidade existente na população que é de natureza genética.

A herdabilidade expressa a proporção da variação fenotípica que possui natureza genética, ou ainda, a relação entre a variância genética e a variância fenotípica das unidades de seleção (CRUZ, 2005). A partir dessa definição, tem-se que a herdabilidade é função do que se está praticando seleção, se é seleção entre famílias, entre indivíduos, seleção massal estratificada, etc. A herdabilidade ainda depende do esquema experimental utilizado, da característica avaliada, do método de estimação, da diversidade genética da população, entre outros.

A herdabilidade pode ser estimada em sentido amplo ou restrito. A herdabilidade em sentido amplo pode ser estimada por:

$$h_a^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_f^2}$$

em que:

h_a^2 = herdabilidade em sentido amplo;

σ_g^2 = variância genética da unidade de seleção; e,

σ_f^2 = variância fenotípica da unidade de seleção.

Kehr e Gardner (1960), trabalhando com progênies de policruzamento e os clones dos seus pais, obtiveram a herdabilidade por meio de

$$h^2 = \frac{4\sigma_{px}^2 + 2cov_{op}}{2\sigma_c^2}$$

em que

h^2 = herdabilidade

σ_{px}^2 = variância entre as progênes do policruzamento;

cov_{op} = covariância entre os clones dos pais com as progênes do policruzamento.

σ_c^2 = variância fenotípica entre os clones.

Uma vez determinado o coeficiente de herdabilidade entre as unidades de seleção, pode-se passar para o processo de estimação do ganho predito com a seleção. A possibilidade da predição dos ganhos obtidos por uma estratégia de seleção constitui uma das principais contribuições da genética quantitativa. Por meio destas informações, é possível orientar de maneira mais efetiva o programa de melhoramento, prever o sucesso do esquema seletivo, adotar e decidir, com base científica, por técnicas alternativas que possam ser mais eficazes.

O ganho com a seleção (GS) pode ser estimado por:

$$GS = DS \times h^2$$

sendo

DS = diferença entre a média dos indivíduos selecionados e a média geral da população.

em que:

DS = diferencial de seleção

Por exemplo, se a média da população em que eu irei praticar a seleção for 15 t ha/ano, e se a média dos indivíduos selecionados nessa população for 18 t ha/ano, com uma herdabilidade de 50 %, meu ganho com a seleção será:

$$DS = 18 - 15 = 3$$

$$GS = 3 \times 0,5 = 1,5 \text{ t ha/ano}$$

Endogamia

A endogamia é o fenômeno que ocorre em decorrência do acasalamento entre indivíduos aparentados, ou seja, relacionados por ascendência. O coeficiente de endogamia refere-se à probabilidade de que os alelos de um loco do mesmo indivíduo sejam idênticos quando derivam ou são cópias de um alelo comum encontrado nos ancestrais daquele indivíduo.

A endogamia traz conseqüências, como o aumento da freqüência de homozigotos, com relação a todos os locos, na população. Contudo, essa é uma mudança efêmera, pois, uma vez que o sistema de acasalamento é mudado, a

freqüência de homozigotos será novamente reduzida. A endogamia não causa alteração na freqüência gênica, ela apenas altera a organização dos alelos nos genótipos.

Segundo Wrigth (1922), endogamia ocorre em consequência da identidade dos gametas que se unem, sendo expressa pela correlação entre os valores dos gametas que formam a progênie derivada de uma população.

O coeficiente de endogamia pode ser representado por F , que representa a probabilidade de os alelos, de um loco do mesmo indivíduo, ser idênticos por ascendência.

Pensando-se em um loco de um indivíduo X que produz um gameta "ab", o valor do coeficiente de endogamia desse indivíduo é dado por $F_x = P(a \equiv b)$ em que \equiv significa ser idêntico por ascendência. Assim, o coeficiente de endogamia de um indivíduo é a probabilidade de que ele produzirá gametas com alelos idênticos por ascendência.

Se for cruzado o indivíduo X com outro Y que produz gametas "ef", seus descendentes (F_1) terão o seguinte coeficiente de endogamia:

$$F_{1xy} = \frac{1}{6} [P(a \equiv b) + P(a \equiv e) + P(b \equiv f) + P(b \equiv e) + P(e \equiv f) + P(e \equiv f)]$$

Sendo r_{xy} definido como a probabilidade de um alelo aleatório de X ser idêntico por ascendência a um alelo aleatório de Y , então:

$$P(a \equiv e) = P(a \equiv f) = P(b \equiv e) = P(b \equiv f) = r_{xy}$$

Assim:

$$F_{1xy} = \frac{1}{6} (4r_{xy} + F_x + F_y) = \frac{2}{3} r_{xy} + \frac{1}{6} (F_x + F_y)$$

Dessa forma, uma progênie autotetraplóide pode ser endogâmica quando seus pais são aparentados ou quando eles são endogâmicos. Os filhos sempre herdam 1/3 da endogamia média dos pais, quando esses não forem aparentados. Esta é uma característica causada por gametas diplóides. Dessa forma, pode ser imaginado que X é um indivíduo endogâmico com seus quatro alelos idênticos por ascendência ($a \equiv b \equiv c \equiv d$) e Y é não endogâmico ($e \neq f \neq g \neq h$), sendo X e Y não aparentados. Seus descendentes (Z), formados pela união dos gametas "ab" e "ef", terão a seguinte constituição genotípica $a \equiv b \neq e \neq f$, sendo F a probabilidade de alelos idênticos por ascendência:

$$F_2 = \frac{1}{6} [P(a \equiv b) + P(a \equiv e) + P(a \equiv f) + P(b \equiv e) + P(b \equiv f) + P(e \equiv f)] = \frac{1}{6} (1 + 0 + 0 + 0 + 0 + 0) = \frac{1}{6}$$

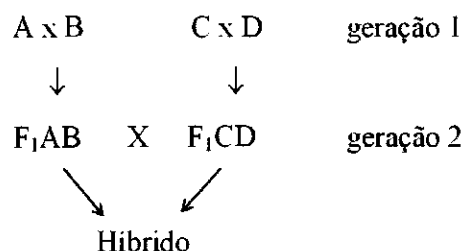
onde a média da endogamia dos pais é $(1 + 0)/2 = 1/2$ e um terço dessa média correspondente a $1/6$ que é a endogamia dos descendentes desses genitores.

Esse fato traz conseqüências na obtenção de híbridos e variedades sintéticas em alfafa, já que pais que não sejam híbridos e nem endogâmicos produzem progênie não híbridas.

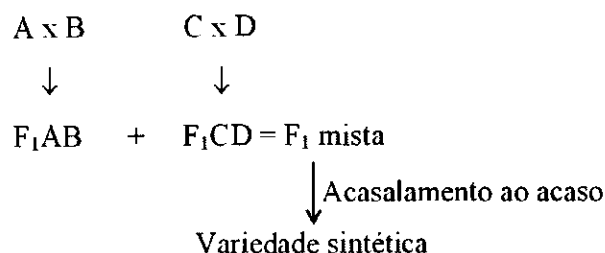
O coeficiente de endogamia pode ser utilizado para comparar diferentes métodos de produção de variedades de alfafa. Para demonstrar essa comparação, são realizados três esquemas hipotéticos em que 4 genitores são utilizados na produção de variedades.

1- Produção de híbrido por um duplo cruzamento em duas gerações.

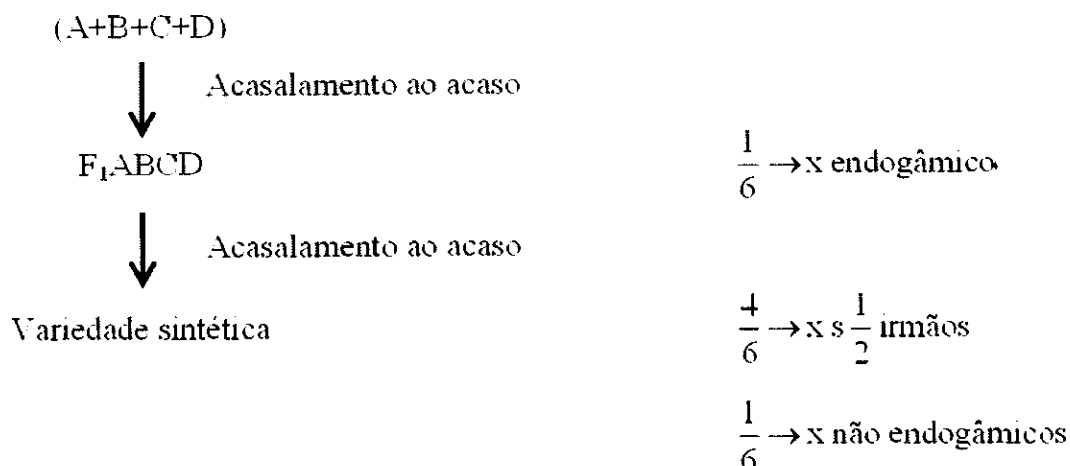
Sendo os pais A, B, C e D, teremos:



2- Produção de variedade sintética pelo acasalamento ao acaso de 2 F₁'s originados de pais diferentes.



3- Produção de variedade sintética pelo acasalamento ao acaso dos quatro genitores distintos.



Pressupondo-se que A, B, C e D não são aparentados e que possuem grau de endogamia semelhante, correspondendo a F_0 , tem-se:

Para o acaso 1:

$a_1 a_2 a_3 a_4 b_1 b_2 b_3 b_4$

Gametas de A	Freqüência	Gametas de B	Freqüência
$a_1 a_2$	1/6	$b_1 b_2$	1/6
$a_1 a_3$	1/6	$b_1 b_3$	1/6
$a_1 a_4$	1/6	$b_1 b_4$	1/6
$a_2 a_3$	1/6	$b_2 b_3$	1/6
$a_2 a_4$	1/6	$b_2 b_4$	1/6
$a_3 a_4$	1/6	$b_3 b_4$	1/6

Observa-se que serão gerados 36 possíveis genótipos diferentes e o mesmo será observado para o cruzamento C com D. Imaginando-se que o cruzamento que fornecerá o híbrido será constituído por indivíduos com dois alelos de cada um dos seus genitores, tem-se:

$a_1 a_2 b_1 b_2 \times c_1 c_2 d_1 d_2$

Com gametas:

$a_1 a_1$	1/6	$c_1 c_1$	1/6
$a_1 a_2$	1/6	$c_1 c_2$	1/6
$a_2 a_2$	1/6	$c_2 c_2$	1/6
$b_1 b_1$	1/6	$d_1 d_1$	1/6
$b_1 b_2$	1/6	$d_1 d_2$	1/6
$b_2 b_2$	1/6	$d_2 d_2$	1/6

Como

$$P(a_i \equiv a_i) = F_A = F_0$$

$$P(b_i \equiv b_i) = F_B = F_0$$

$$P(c_i \equiv c_i) = F_c = F_0$$

$$P(d_i \equiv d_i) = F_d = F_0$$

$$P(a_i \equiv b_i) = P(a_i \equiv c_i) = P(a_i \equiv d_i) = P(b_i \equiv c_i) = P(b_i \equiv d_i) = P(c_i \equiv d_i) = 0$$

Para os quatro genótipos que receberam dois alelos de um mesmo progenitor, ($a_1 a_2 c_1 c_2$; $a_1 a_2 d_1 d_2$; $b_1 b_2 c_1 c_2$ e $b_1 b_2 d_1 d_2$) ter-se-á:

$$\text{Para } a_1 a_2 c_1 c_2 \quad F = \frac{1}{6} [P(a_1 \equiv a_2) + P(a_1 \equiv c_1) + P(a_1 \equiv c_2) + P(a_2 \equiv c_1) + P(a_2 \equiv c_2) +$$

$$P(c_1 \equiv c_2)]$$

$$F = \frac{1}{6} (F_A + F_c) = \frac{1}{6} (2 F_0) = \frac{1}{3} F_0$$

Da mesma forma é obtida a endogamia para os 16 genótipos que receberam dois alelos apenas de um mesmo progenitor ($a_1 a_2 c_1 d_1$, $a_1 a_2 c_1 d_2$, $a_1 a_2 c_2 d_1$, $a_1 a_2 c_2 d_2$, ... , $a_2 b_2 d_1 d_2$), ficando, como exemplo, para $a_1 a_2 c_1 d_1$

$$F = \frac{1}{6} [P(a_1 \equiv a_2) + P(a_1 \equiv c_1) + P(a_1 \equiv d_1) + P(a_2 \equiv c_1) + P(a_2 \equiv d_1) + P(c_1 \equiv d_1)]$$

$$F = \frac{1}{6} (F_A) = \frac{1}{6} F_0$$

Para os demais genótipos, o valor de F é igual a zero.

O coeficiente médio de endogamia no híbrido obtido desse cruzamento será dado por:

$$\frac{4}{36} \times \frac{1}{3} F_0 + \frac{16}{36} \times \frac{1}{6} F_0 + \frac{16}{36} \times 0 F_0 = \frac{1}{9} F_0$$

Como se espera que os demais cruzamentos sejam originados de indivíduos com as mesmas características dos já apresentados, tem-se que a endogamia média deverá ser repetida nesses cruzamentos, sendo, portanto, a endogamia do híbrido formado dada por $\frac{1}{9} F_0$.

Para os casos 2 e 3, chega-se à equação que estima o valor de F utilizando o mesmo raciocínio, sendo:

$$\text{Caso 2 e 3: } F = \frac{1}{24} + \frac{17}{72} F_0 + s \left[\frac{13}{17} + \frac{5}{24} F_0 + s \left(\frac{1}{12} + \frac{1}{4} F_0 \right) \right]$$

Sendo s a frequência de autofecundação dentro dos cruzamentos.

Pelas equações, tem-se que a obtenção de híbridos gera coeficiente de endogamia menor que na obtenção de variedades sintéticas. Este resultado era esperado uma vez que não foram permitidos cruzamentos entre genitores aparentados durante o processo de obtenção das sementes. Na obtenção de variedades sintéticas, tanto a obtida com apenas uma geração de acasalamento ao acaso, quanto a obtida por duas gerações de acasalamento ao acaso, geram-se coeficientes de endogamia semelhantes.

Heterose e depressão endogâmica

A alfafa é uma espécie muito sensível à depressão por endogamia. Tysdal et al. (1942) detectaram redução de 78 % na produção de forragem e 92 % na produção de sementes, após oito gerações de autofecundação. Por outro lado, também ocorre heterose em alfafa. Demarly (1963), por exemplo, verificou que híbrido simples, triplo e duplo produziu 38 %, 39 % e 45 % a mais de forragem do que as variedades avaliadas.

Rotili (1970) relata que, em três gerações de autofecundação acompanhada de seleção intencional, o vigor obtido nas progênes em cada geração foi capaz de reduzir a depressão endogâmica. Acredita-se que a seleção manteve a heterozigose ou aumentou a frequência de genes favoráveis e de combinação gênicas não conhecidas.

Determinar o grau efetivo de endogamia dentro de um programa de melhoramento para propiciar ganhos genéticos dos genitores é um dos importantes objetivos dos melhoristas de alfafa. Isto pode ser possível quando se obtém a maior expressão da heterose em híbridos e em variedades sintéticas através da endogamia e da seleção.

No trabalho de Demarly (1963), foi proposto que o genoma de um indivíduo tetraplóide pode ser caracterizado pela proporção relativa de estruturas tetragênicas, trigênicas, digênicas, simplex e nuliplex. Esse autor menciona que pode ser computada a proporção relativa de cada estrutura em cada geração de um sistema controlado de acasalamentos. Afirmar, ainda, que o genoma inicial possui grande importância na explicação da heterose e da depressão endogâmica.

Dudley (1964) apresenta que, dentre todos os possíveis cruzamentos simples e duplos, entre indivíduos quadruplex, triplex, duplex, simplex e nuliplex, além de seus S_1 , S_2 , S_3 e de suas progênes homozigotas, a heterose máxima tanto de dominância quanto de sobredominância poderá ser verificada em cruzamentos simples entre os pais, tanto quanto entre cruzamentos de suas progênes, sendo reduzido o efeito da seleção entre os cruzamentos.

Modelos matemáticos foram apresentados para tentar descrever a depressão endogâmica e também a heterose em autotetraplóides. Dentre tais modelos, tem-se o de Busbice e Wilsie (1966), em que as estruturas genotípicas são dadas por T_0 (quadruplex), T_1 (Triplex), T_2 (duplex), T_3 (simplex) e T_4 (nuliplex) com frequências P_0 , P_1 , P_2 , P_3 , e P_4 , respectivamente. Assim, o valor genotípico da estrutura de um loco individual ou de alguns segmentos de cromossomos pode ser dado pelo valor individual dos alelos, junto ao valor de dois, três e quatro alelos, como se segue:

$$VG_{T_0} = VG_{iiii} = i+i+i+i + 6(ii) + 4(iii) + 1(iiii) = 4(i) + 6(ii) + 4(iii) + 1(iiii)$$

Assim:

$$VG_{T_1} = VG_{iiij} = [3i + 1j] + [3(ii) + 3(ij)] + [1(iii) + 3(iij)] + (iij)$$

$$VG_{T_2} = VG_{iijj} = [2i + 2j] + [1(ii) + 4(ij) + 1(jj)] + [2(iij) + 2(ijj)] + 1(iijj)$$

$$G_{T_3} = VG_{iijk} = [2i + j + k] + [1(ii) + 2(ij) + 2(ik) + (jk)] + [1(iij) + 1(iik) + 2(ijk)] + 1(iijk)$$

$$VG_{T_4} = VG_{ijkl} = [i+j+k+l] + [1(ij) + 1(ik) + 1(il) + 1(jk) + 1(jl) + 1(kl)] + [1(ijk) + 1(ijl) + 1(ikl) + 1(jkl)] + 1(ijkl)$$

em que

VG = valor genotípico da estrutura;

i,j,k,l = São os valores aditivos de cada alelo separadamente;

ii,ij,ik,il,jk,jl e kl = São os valores das interações de primeira ordem;

iii,ijl,il e jkl: São os valores das interações de segunda ordem;

iiii, iiij, iijj e ijkl = São os valores das interações de quarta ordem.

Considerando-se que a média da população é dada pelo total dos efeitos aditivos e dos valores das interações dos genes somados para os locos de todos os indivíduos da população, então, todos os valores aditivos dos genes dão origem à média, a qual é designada por A. Sendo a heterose resultado de interação heterogênica entre alelos não idênticos, a genotípica poderá, assim, ser obtida por:

$$VG_{iiii} = A$$

$$VG_{iiij} = A + ij$$

$$VG_{iijj} = A + ij$$

$$VG_{iijk} = A + ij + ik + jk + ijk$$

$$VG_{ijkl} = A + ij + ik + il + jk + jl + kl + ijk + ijl + ikl + jkl + ijkl$$

O valor genotípico da população será dado por:

$$VG_{pop} = A + (P_1 + P_2 + 3P_3 + 6P_4) (ij) + (P_3 + P_4) (ijk) + P_4 (ijkl)$$

em que:

ij, ijk e ijkl = interações não alélicas de primeira, segunda e terceira ordens, respectivamente.

Por meio dos valores genotípicos, tem-se que os genótipos portadores das estruturas tetragênicos e trigênicos possuem maior importância na expressão da heterose em alfafa. Busbice e Wilsie (1966) notaram que a proporção de estruturas diferentes se alterava com a geração de endogamia e que essas alterações podiam ser computadas pela soma de todas as estruturas dos arranjos genotípicos teóricos das progênies endogâmicas. Por considerar cada uma das estruturas genotípicas separadamente, eles foram capazes de relatar a perda das interações entre alelos não idênticos para produção, além do coeficiente de endogamia. Observaram, também, que a depressão endogâmica em alfafa é relacionada com a taxa em que as interações de primeira ordem são perdidas por locos tetragênicos e trigênicos. As perdas dessas interações por locos digênicos não são rápidas nem suficientes para explicar a depressão endogâmica.

Esse modelo genético, assim como o apresentado por Gallais (1967), proporcionaram certo discernimento, mas em experimentos cuidadosamente planejados com relação à endogamia, seleção e hibridização. Em se tratando de depressão endogâmica e heterose, tem-se que a alfafa é muito sensível à endogamia, de maneira que o processo que favoreça obtenção de endogamia na população levará, conseqüentemente, a uma redução de heterose em conjunto com o aparecimento da depressão endogâmica.

Bingham (1979) propôs o cruzamento de pelo menos 4 cultivares selecionadas, não aparentadas, para compor um sistema de duplos-cruzamentos visando liberar o máximo da heterose. Na terceira geração de acasalamento ao acaso da população resultante, teoricamente, 50 % dos indivíduos deveriam ser produto do cruzamento duplo, representando, assim, o máximo da heterose.

Melhoramento genético

Modelo autotetraplóide: Implicação no melhoramento

As considerações sobre genética quantitativa apresentadas anteriormente acarretam implicações no melhoramento genético da alfafa.

Pensando-se na obtenção de todos os genótipos possíveis de um dado cruzamento, serão necessárias, no mínimo, duas gerações de acasalamento ao acaso e não apenas uma geração, como é o caso de diplóides, para eles se manifestarem. Se o pesquisador estiver à procura de genótipos extremos, nulíplex ou quadríplex, será necessário conduzir o programa de melhoramento com maior número de indivíduos para que a probabilidade de obtenção desses genótipos seja maior, uma vez que suas freqüências são reduzidas na população.

Outra característica importante dos autotetraplóides é que eles alcançam o equilíbrio gamético de forma assintótica, devido ao fato de os gametas diplóides não permitirem a obtenção dos genótipos formados por todos os arranjos possíveis em uma só geração, como ocorre em organismos diplóides. De maneira geral, o equilíbrio é alcançado após 4 ou 5 gerações de acasalamento ao acaso nos autotetraplóides (BUSBICE et al., 1972).

A sensibilidade da alfafa à endogamia traz implicações na predição do rendimento das variedades sintéticas em gerações avançadas (BUSBICE e GURGIS, 1976). Dessa forma, é necessário que os melhoristas sempre considerem:

- 1) A autofecundação seguida de seleção como método de melhoramento pode ser um problema, sendo impraticável a produção de linhas puras, assim como o desenvolvimento de linhas endogâmicas para a obtenção de híbridos.
- 2) A utilização de genitores não aparentados e não endogâmicos deve ser privilegiada se o objetivo for encontrar uma progênie não endogâmica e que não manifeste redução no rendimento.

No caso de seleção visando resistência a pragas e doenças, em que de maneira geral é selecionado um gene de resistência, a resposta à seleção é rápida até que a frequência desse gene chegue a 0,5. A partir dessa frequência, a resposta à seleção torna-se lenta e de difícil constatação. Isto se dá porque, se a frequência de um alelo dominante for igual a 0,5, seus fenótipos serão encontrados em aproximadamente 93 % de toda a população (RODRIGUEZ, 1986).

Objetivos do melhoramento

Todo e qualquer programa de melhoramento é iniciado com a definição dos objetivos, os quais irão ditar os rumos a serem tomados pelo programa. É necessário que, dentre os objetivos estabelecidos, existam os de maior e de menor prioridade. Deve existir uma associação entre os objetivos e os materiais genéticos disponíveis para o trabalho, já que os materiais genéticos são os responsáveis pela amplitude dos ganhos que poderão ser alcançados. Se o material genético disponível não permitir obtenção dos objetivos definidos, é necessário que esse material seja implementado, seja por introdução de materiais exóticos ou mesmo pela modificação genética dos já existentes por meio de hibridações.

Dentre os diferentes objetivos definidos para o desenvolvimento de programas de melhoramento genético de alfafa, podem ser destacados: a obtenção de cultivares que produza maior quantidade de forragem; que apresente maior tolerância a estresses abióticos; a obtenção de materiais adaptados a diferentes condições edafoclimáticas, maior persistência e baixo grau de repouso invernal (BASIGALUP, 2007).

De maneira geral, a utilização de materiais exóticos serve apenas para a introgressão de alelos não disponíveis no material em que se está trabalhando. Nos últimos anos, esse recurso tem sido empregado com maior frequência que em anos passados.

No início do programa de melhoramento, é necessário definir os principais caracteres da planta de alfafa, caracteres esses que originaram os objetivos

intermediários do programa. Os objetivos intermediários são aqueles que, quando obtidos em seu conjunto, possibilitam alcançar os objetivos principais.

Dessa forma, características como resistência a pragas e doenças, adaptabilidade, repouso invernal, entre outras, são as que geram os objetivos intermediários do programa de melhoramento.

Outras decisões relevantes por parte do melhorista se relacionam com os métodos de melhoramento a serem utilizados, as unidades de seleção, o tamanho da população, a intensidade de seleção e o grau de melhoramento esperado (RUMBAUGH et al., 1988).

Métodos de melhoramento

Em virtude da natureza autotetraplóide e alógama da alfafa, ao se empregar os métodos de melhoramento para a espécie, deve-se considerar a manutenção de uma base genética mais ampla, de modo a se evitar os problemas de depressão endogâmica. Em alfafa, os métodos clássicos de melhoramento podem ser divididos em dois grandes grupos: melhoramento interpopulacional e intrapopulacional (Ver quadro na página 193).

A - Melhoramento interpopulacional

Neste caso, a seleção se baseia no conceito de melhoramento de populações de polinização aberta, em que se permite o livre fluxo de genes entre populações, seja ele proporcionado pela livre polinização ou mesmo pela polinização dirigida. O intercâmbio dos grãos de pólen é realizado aleatoriamente, pelos insetos, ou mesmo por polinização manual (BASIGALUP e HIJANO, 1995).

1 - Formação de populações

A formação de populações é um termo geral que cobre qualquer forma de construção e enriquecimento populacional e não se trata de um procedimento específico (TYSDAL et al., 1942).

O objetivo é o desenvolvimento de uma população de plantas com uma alta frequência de genes favoráveis para expressão de um ou mais caracteres de interesse, ao mesmo tempo em que se mantém uma base genética, suficientemente ampla, como tentativa de se minimizar os efeitos de endogamia. Trata-se de cruzar indivíduos de diferentes populações, sendo realizada a seleção dos indivíduos desejáveis em gerações sucessivas.

Uma outra maneira de trazer alelos ou indivíduos para constituir a população é a introdução de germoplasma, podendo esse ser exótico ou mesmo uma variedade de outro país ou região.

2 - Cultivar sintética

Entende-se por cultivar sintética aquela produzida por acasalamento ao acaso entre vários genitores, de maneira que todos os acasalamentos possíveis tenham igual probabilidade de ocorrência (BASIGALUP e HIJANO, 1995).

Em alfafa, os genitores são selecionados por características específicas e algumas vezes pelo comportamento combinatório entre aqueles pré-selecionados. As cultivares sintéticas são usados em gerações avançadas (geração 3 ou 4) como cultivares comerciais.

Uma das características dos sintéticos é que eles permitem a expressão de certo grau de heterose, mantendo, ainda, uma apreciável diversidade genética. Claro que isto depende, sobretudo, do número de genitores utilizados e do grau de parentesco. Pelo número de genitores utilizados, tem-se a classificação de sintéticos de base ampla (vários genitores) e de base estreita (poucos genitores).

O êxito de uma cultivar sintética dependerá, enormemente, da seleção dos genitores. Isso ocorre porque toda a base genética da cultivar sintética é oriunda dessa seleção. Atenção acerca do potencial combinatório entre os genitores também deve ser considerada, uma vez que o comportamento do híbrido será essencial para o sucesso da cultivar sintética.

O grau de redução do rendimento de um sintético está relacionado ao número de genitores utilizados na formação da cultivar sintética. Além do número, existem também o grau do parentesco entre os genitores, a taxa de autofecundação durante a multiplicação e a geração de multiplicação (BUSBICE, 1970). As cultivares sintéticas de base genética ampla são mais estáveis em gerações avançadas.

Listagem dos métodos de melhoramento mais usados em alfafa, classificados segundo sistema de parentesco e unidades de seleção

A- Melhoramento interpopulacional

- 1- Formação de populações
- 2- Variedades sintéticas/sintéticos
- 3- Retrocruzamento
- 4- Cruzamentos complementares de cultivares
- 5- Híbridos

B- Melhoramento intrapopulacional

a- Seleção de plantas individuais

- 1- Seleção massal/ Seleção fenotípica recorrente
- 2- Avaliação clonal
- 3- Análise de progênies
 - i) Polinização aberta
 - ii) autofecundação (S_1)
 - iii) Topcross
 - iv) Policruzamento
 - v) Cruzamento dialélicos

b- Seleção de famílias

- 1- Seleção de famílias de meio-irmãos
- 2- Seleção de famílias de irmãos-completos
- 3- Seleção dentro de cada família
- 4- Seleção combinada

Adaptado de Rumbaugh et al. (1988).

3 - Retrocruzamento

É um método de melhoramento utilizado para corrigir alguma deficiência de importância em materiais de grande valor. Contudo, na atualidade, o desenvolvimento de cultivares de alfafa mediante retrocruzamentos tem sido menos intenso. No caso particular de alfafa, devem-se tomar cuidados especiais para se minimizar a depressão por endogamia.

4 - Cruzamentos complementares de cultivares

Esses cruzamentos são empregados quando se pretende incorporar características valiosas, de dois ou mais genótipos, numa população. As populações

resultantes poderão ser utilizadas como fonte de germoplasma para posteriores trabalhos de melhoramento.

Busbice et al. (1972) demonstraram que, se duas populações se cruzam, supondo-se que cada uma delas possua um gene dominante favorável em diferentes locos, com uma frequência 0,5, ao atingir o ponto de equilíbrio, a população resultante chegará a uma frequência de 46,7 % de indivíduos com ambos genes dominantes, 43,3 % de indivíduos com apenas um gene dominante e 10 % sem nenhum desses alelos dominantes.

Como em alfafa a maioria dos genes que condicionam resistência a pragas e doenças é dominante, este procedimento pode ser de grande utilidade para o desenvolvimento de cultivares de resistência múltipla. Outra vantagem desse método é o fato de permitir o envolvimento de uma população não aparentada e também não endogâmica, o que gera certa quantidade de vigor híbrido ou heterose.

5 - Híbridos

Busbice et al. (1972) apresentam como vantagens da utilização de híbridos a completa utilização de ação gênica não aditiva e a redução da endogamia.

No final da década de 60, surgiu a machoesterilidade citoplasmática para produção de híbridos (BRADNER e CHILDERS, 1968). Anteriormente, existia o uso do mecanismo de autocompatibilidade (TYSDAL et al., 1942).

Existem problemas de difícil solução no desenvolvimento de híbridos. Childers e Barnes (1972) apresentaram que a polinização entomofílica de alfafa complica a hibridação, pois existe preferência das abelhas sobre certas plantas. Ainda existe a herança tetraplóide de alfafa, a qual dificulta o uso de genes nucleares restauradores da fertilidade da planta.

Barnes et al. (1972) também concluíram que a incompatibilidade em alfafa não era um mecanismo suficientemente confiável para controle de polinização na produção de plantas híbridas.

As alternativas aos problemas anteriores, como a propagação vegetativa dos materiais a serem cruzados, demandam grande esforço e não seriam economicamente viáveis. Por isso, não se comercializa no mundo nenhum híbrido de alfafa. Assim, a busca de métodos alternativos para maximizar heterose é procedente (BINGHAM, 1983).

B - Melhoramento intrapopulacional

A finalidade comum das técnicas de seleção incluídas neste grupo consiste em aumentar a frequência de genes favoráveis dentro de uma mesma população de

plantas. Neste sentido, o melhoramento intrapopulacional em alfafa tem sido efetivo para incrementar os níveis de resistência a pragas e doenças.

As unidades de seleção dentro deste grupo de métodos podem ser plantas individuais, famílias de plantas ou suas combinações.

A seguir, será descrito as técnicas de melhoramento intrapopulacional comuns e que são classificadas segundo as unidades de seleção empregada.

1 - Seleção de plantas individuais

a - Seleção massal

Este método consiste na seleção de indivíduos desejáveis dentro de uma população, tendo por base o seu fenótipo, sem a realização de avaliações de progênie. As sementes das plantas selecionadas são misturadas para a produção das gerações subseqüentes.

Este método é simples e econômico e, em geral, muito efetivo para o melhoramento de caracteres de alta herdabilidade e pouca influência do ambiente. Parte importante do êxito do programa consiste em manter uma adequada pressão de seleção (RODRIGUEZ, 1986).

A principal desvantagem da seleção massal consiste na incerteza da identificação dos genótipos superiores, uma vez que a fonte de pólen é desconhecida. Neste caso, deve-se eliminar ou cortar os indivíduos não selecionados, impedindo que o pólen seja depositado nas plantas selecionadas.

Outro aspecto importante a considerar é que se trabalha com populações de tamanho reduzido, correndo riscos de consangüinidade e depressão por endogamia.

Na seleção de caracteres de baixa herdabilidade durante a identificação de indivíduos superiores, pode ser seguido método de seleção especial, reduzindo os efeitos ambientais e melhorando a eficiência do processo seletivo. Neste sentido, a divisão da população em grupos pequenos, com a seleção do melhor indivíduo de cada grupo, foi usada com êxito por Burton (1974) no melhoramento de *Paspalum notatum*.

Em forrageiras poliplóides, como a alfafa, nenhum método de seleção é capaz de obter um nível prático de resistência a nenhuma praga ou enfermidade em apenas uma geração (RODRIGUEZ, 1986). Portanto, um método de grande potencialidade seria aquele que possibilite grande intensidade de seleção, com curto intervalo de gerações e que se adapte a um esquema cíclico de seleção de indivíduos (HILL e HAAG, 1974). A seleção fenotípica recorrente, com refinamento de seleção massal, é o método que melhor se aproxima destes requisitos.

Esse método consiste em selecionar indivíduos desejáveis através de seu fenótipo e seu posterior intercruzamento para a produção da geração seguinte, repetindo o processo anterior. Mediante a realização de diversos ciclos de seleção e intercruzamentos, se incrementa a freqüência de alelos favoráveis na população (DUDLEY et al., 1963; HANSON et al., 1972).

Tem-se obtido êxito com a seleção fenotípica recorrente no desenvolvimento de populações ou cultivares com resistência combinada a pragas e doenças (RUMBAUGH et al., 1988). Por outro lado, a seleção massal é mais eficiente no melhoramento de caracteres qualitativos e de alta herdabilidade (TWAMLEY, 1974).

Os problemas que podem aparecer quando se trabalha com seleção fenotípica recorrente são: 1- baixa freqüência genética inicial; 2- baixa herdabilidade do caráter; e 3- alta variância ambiental (HILL e HAAG, 1974).

Por outro lado, é necessário considerar que os pilares do método consistem na avaliação de grandes populações de plantas e no intercruzamento de um número relativamente alto de progenitores para produzir cada geração.

Com respeito a isso, tem-se verificado que não menos que 75 indivíduos deveriam ser recombinados a cada ciclo quando se trabalha com alfafa (HILL et al., 1969). Logicamente, este número está relacionado com o grau de consangüinidade dos progenitores.

b - Avaliação clonal

A clonagem de indivíduos selecionados e sua avaliação em arranjos experimentais com repetições podem ajudar o melhorista a identificar genótipos superiores.

A clonagem é útil quando se trabalha com caracteres de média e baixa herdabilidade e quando a interação genótipo x ambiente for importante.

Na avaliação clonal, se consegue estimar a magnitude da variância ambiental e sua interação com a variância genotípica, o que gera maior precisão na seleção de indivíduos, reduzindo as possibilidades de "escapes".

As desvantagens deste procedimento são: o maior esforço requerido em tarefas de clonagem e a dificuldade das plantas clonadas desenvolverem raízes pivotantes normais (RUMBAUGH et al., 1988).

c - Avaliação de progênes

Estes procedimentos podem ser efetivos na identificação de genótipos superiores tendo como finalidade a seleção de progenitores através da avaliação de sua descendência.

O princípio básico desta técnica consiste em selecionar plantas de uma população, observar o comportamento de sua descendência, conservar os melhores indivíduos (não as progênes) e inter cruzá-los para produzir a geração seguinte.

Pelo menos cinco avaliações de progênes têm sido utilizadas no melhoramento de alfafa: 1- polinização aberta; 2- autofecundação (S_1); 3- topcross (teste de população com testador); 4- policruzamento; e 5- cruzamentos dialélicos (RUMBAUGH et al., 1988). A seleção do método depende fundamentalmente da herança do caráter em questão.

Duas características comuns a todas as avaliações de progênie são: requerimento de uma geração extra para a avaliação e considerável demanda de recursos.

Por essas razões, a avaliação de progênie se reserva unicamente para aqueles caracteres de baixa herdabilidade e de elevada interação genótipo x ambiente. Para o melhoramento de caracteres qualitativos, os ciclos de seleção fenotípica recorrente, geralmente, resultam em maior eficiência.

Na avaliação de populações de polinização aberta, o foco principal é a semente das plantas desejáveis e se avaliam suas progênes em ensaios com repetições. As sementes remanescentes dos indivíduos selecionados com base nas suas progênes são utilizadas para produzir a geração seguinte.

A maior desvantagem desta avaliação é a grande proporção de pólen de origem desconhecida e fenotipicamente inferior a que se deseja.

Nas avaliações S_1 , em que se efetuam autofecundação das plantas potencialmente selecionadas, as sementes autofecundadas são avaliadas em ensaios com repetições, em que cada parcela é constituída por família S_1 .

Este método possui algumas desvantagens, como a existência do mecanismo de autoincompatibilidade que pode reduzir a formação de sementes S_1 , obrigando o desenvolvimento de grande quantidade de flores e a depressão por endogamia, que poderia complicar a comparação entre as progênes. Dessa forma, as avaliações de S_1 podem ser muito efetivas quando se trabalha com caracteres que são condicionados por ações gênicas aditivas.

As avaliações de topcross das plantas desejáveis se dão cruzando essas plantas com um provador comum, obtendo-se um grupo de famílias de meio-irmãos, de irmãos completos, em cadeias de cruzamento. Desta forma, pode-se determinar a

capacidade combinatória geral e específica. Posteriormente, ainda se deve contemplar o uso do testador em cruzamentos com as plantas selecionadas.

As avaliações de policruzamentos são similares às de polinização aberta, com a diferença de que, no policruzamento, a fonte de pólen é conhecida. As plantas pré-selecionadas são clonadas, multiplicadas e transplantadas em diferentes arranjos com acasalamentos ao acaso.

Visando o cruzamento desses materiais, é necessário o florescimento simultâneo dos materiais utilizados. Quando se faz uso de abelhas para polinização, deve ser considerada a preferência floral que os insetos possuem. Igualmente importante é a redução da ocorrência de autofecundações.

Nos cruzamentos dialélicos, cada planta selecionada é cruzada com as outras em todas as combinações possíveis, podendo também incluir os cruzamentos recíprocos. O uso do dialelo permite ao fitomelhorista maiores informações que os outros testes de progênie, já que os progenitores são conhecidos, podendo estimar a capacidade geral e específica de combinação. Como é um método trabalhoso, só deve ser usado na etapa final de um programa de melhoramento.

2 - Seleção de famílias

A diferença fundamental da seleção de famílias em comparação aos métodos de melhoramento intrapopulacional com avaliação de progênies está nas unidades de seleção. Neste caso, a geração seguinte é produzida pelo intercruzamento das progênies das plantas selecionadas e não pelas plantas originais.

Em geral, a seleção de famílias é mais efetiva que as técnicas de seleção massal quando se trabalha com caracteres de baixa herdabilidade e com forte interação genótipo x ambiente (RUMBAUGH et al., 1988).

Se as progênies utilizadas foram oriundas de cruzamentos obtidos por polinização aberta ou policruzamentos, as famílias a serem selecionadas serão de meios-irmãos. Contudo, se as progênies são oriundas de dialelos ou topcross, as famílias resultantes serão de irmãos completos. Em ambos os casos, as famílias são avaliadas em ensaios com repetições.

Dessa forma, podem ser eliminadas as piores famílias, e as selecionadas podem ser intercruzadas para obtenção da geração seguinte.

Existe ainda a possibilidade de seleção dentro das famílias ou até mesmo seleção combinada.

Seleção dentro da família

Neste caso, os melhores indivíduos dentro das melhores famílias são selecionados para serem inter cruzados, obtendo-se a geração seguinte. A pressão de seleção será menor do que quando se selecionam as plantas das melhores famílias.

Seleção combinada

É uma técnica que permite seleção para mais de um caráter. A situação mais comum que os melhoristas enfrentam durante o desenvolvimento de cultivares é a necessidade de melhorar mais de um caráter simultaneamente.

Existem diferentes técnicas de seleção para caracteres múltiplos, podendo ser divididos basicamente em 1- Níveis independentes de seleção; 2- Seleção em tandem; e 3- Seleção com base em índices.

Níveis independentes de seleção

Para cada caráter se elege um determinado nível a alcançar e se retêm, no mesmo ciclo de melhoramento, apenas aquelas unidades de seleção (plantas individuais ou famílias) que satisfaçam todos os níveis pré-fixados.

Por exemplo, pode ser considerado o caso em que uma fração da população é selecionada para o caráter A, em seguida nesta fração se seleciona para o caráter B, obtendo outra fração que vai sofrendo seleção até o último caráter. De maneira geral, os indivíduos selecionados são inter cruzados para constituírem a geração seguinte, completando cada ciclo de melhoramento.

Uma variação do esquema anterior, utilizada especialmente para o desenvolvimento de populações com resistência múltipla a pragas e doenças, é a chamada eliminação sucessiva. Os indivíduos sobreviventes às pragas "a" são expostos às pragas "b", testam-se os sobreviventes, até que no final obtêm-se genótipos resistentes ou com maior tolerância.

Com níveis independentes de seleção e seus variantes, a intensidade de seleção para caracteres individuais reduz quando o tamanho da população e o número de indivíduos selecionados são mantidos constantes (PIRCHNER, 1969). Dessa forma, se os caracteres possuem importância econômica similar e são geneticamente independentes, o progresso global será maior que o obtido com a seleção para cada caráter individualmente (RUMBAUGH et al., 1988)

Seleção em tandem

Melhoramento de um caráter, seja por uma ou mais gerações, até atingir níveis adequados. Em seguida, iniciam-se ciclos de seleção para melhorar um segundo

caráter e, assim, sucessivamente. O número de ciclos de seleção e o nível de melhoramento podem variar para cada caráter.

Seleção por índices

Dentre as características agrônômicas importantes para o melhoramento de forrageiras, a produção de matéria seca se destaca e tem sido avaliada na maioria dos ensaios comparativos de desempenho de cultivares de alfafa (MOREIRA et al., 1996; JULIER et al., 2000; BOTREL et al., 2001). Contudo, essas características apresentam, na maioria dos casos, grande influência ambiental, não sendo muitas vezes obtidos por limitações edafoclimáticas (FONTES et al., 1993).

Assim, a seleção simultânea de um conjunto de caracteres de expressividade econômica aumenta a chance de êxito de um programa de melhoramento. Para tal, a teoria de índice de seleção permite combinar as múltiplas informações contidas na unidade experimental, possibilitando a seleção com base em um complexo de variáveis que reúna vários atributos de interesse econômico. Desse modo, o índice de seleção constitui um caráter adicional, estabelecido pela combinação linear de vários caracteres, que permite efetuar, com eficiência, a seleção simultânea (CRUZ e REGAZZI, 1997; CRUZ et al., 2004).

O índice de Mulamba e Mock (1978) já foi indicado como o que propicia melhores resultados para a seleção de genótipos superiores, tais como os verificados na soja (COSTA et al., 2004), feijão-de-corda (SANTOS e ARAÚJO, 2001) e batata (BARBOSA e PINTO et al., 1998). O índice de Elston (1963) também já foi referido como uma estratégia eficiente para obtenção de ganho genético em feijão-de-corda (SANTOS e ARAÚJO, 2001).

Podem ser evidenciadas claras diferenças quando se comparam as estimativas de ganhos genéticos obtidos com a seleção direta e as estimativas com seleção, tendo por base os índices de Mulamba e Mock (1978), distância genótipo ao ideótipo e o índice de Elston (1963).

A seleção direta gera estimativas de ganhos superiores nas características principais em seleção. Contudo, os ganhos indiretos são dos mais variados tipos, o que não acontece quando a seleção é praticada com os índices. Esses índices geram uma distribuição dos ganhos nas características em análise, conforme já evidenciado por Cruz e Regazzi (1997) e Cruz et al. (2004).

Uma vez determinados os índices que propiciam maiores estimativas de ganhos genéticos, é necessário realizar a determinação de qual grupo de genótipos deverá ser selecionado, o que é tarefa do melhorista.

Considerações finais

Neste capítulo são abordados o sistema reprodutivo, a genética quantitativa (segregação e formação de gametas, ganhos por seleção, componentes de variância genética e herdabilidade, endogamia, heterose e depressão endogâmica) e os métodos clássicos de melhoramento em alfafa (melhoramento inter e intrapopulacional).

Referências

- ALLARD, R. W. **Princípios do melhoramento genético de plantas**. São Paulo: Edgard Blucher, 1971. 381 p.
- BARBOSA, M. H. P.; PINTO, C. A. B. P. Eficiência de índices de seleção na identificação de clones superiores de batata. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, p. 149-156, 1998.
- BARNES, D. K.; BINGHAM, J. D.; DAVIS, W. H. The flower, sterility mechanism, and pollination control. **Agronomy Journal**, Madison, v. 15, p. 123-141, 1972.
- BASIGALUP, D. H. Mejoramiento genético y desarrollo de variedades. In: BASIGALUP, D. H. (Ed.). **El cultivo de la alfalfa en la Argentina**. Buenos Aires: INTA, 2007. p. 15-25.
- BASIGALUP, D. H.; HIJANO, E. H. El mejoramiento genético de la alfalfa. In: HIJANO, E. H.; NAVARRO, A. **La alfalfa en Argentina**. San Juan: INTA, Centro Regional Cuyo. 1995. p. 40-60.
- BLAKESLEE, A. F.; BELLING, J.; FARNHAM, M. E. Inheritance in tetraploid daturas. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 76, n. 4, p. 329-373, 1923.
- BINGHAM, E. T. Maximizing hybrid vigor in autotetraploid alfalfa. In: BETTER CROPS FOR FOODS, CIBA FOUND, 97., 1983, London. **Proceedings...** London: Pitman Books, 1983. p. 130-143.
- BINGHAM, E. T. Maximizing hybrid vigor in autotetraploid alfalfa. In: LEWIS, W. H. (Ed.). **Polyplóide biological relevance**. New York: Plenum Press, 1979. p. 471-489.
- BOTREL, M. A.; FERREIRA, R. P.; ALVIM, M. J.; XAVIER, D. F. Cultivares de alfafa em área de influência da Mata Atlântica no Estado de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, p. 1437-1442, 2001.
- BRADNER, N. R.; CHILDERS, W. R. Cytoplasmic male sterility in alfalfa. **Canadian Journal of Plant Science**, n. 48, p. 111-112, 1968.
- BURTON, G. W. Recurrent restricted phenotypic selection increases forage yields of Pensacola bahiagrass. **Crop Science**, Baltimore, n. 14, p. 831-835, 1974.
- BUSBICE, T. H. Predicting yields in synthetic varieties. **Crop Science**, Baltimore, n. 10, p. 265-269, 1970.

- BUSBICE, T. H.; GURGIS, R. Y. **Evaluating parents and predicting performance of synthetic varieties**. Washington: USDA ARSS US-Government Printing Office, 1976. 130 p.
- BUSBICE, T. H.; HILL, R. R.; CARNAHAN, H. L. Genetics and breeding procedures. In: HANSON, C. H. (Ed.). **Alfalfa Science and Technology**. Madison: American Society Agronomy, 1972. p. 283-315.
- BUSBICE, T. H.; WILSIE, C. P. Inbreeding depression and heterosis in autotetraploids with application to *Medicago sativa* L. **Euphytica**, Wageningen, v. 15, p. 52-67, 1966.
- CHILDERS, W. R.; BARNES, D. K. Evolution of hybrid alfalfa. **Agricultural Science Review**, Washington, v. 10, p.11-18, 1972.
- COSTA, M. M.; DI MAURO, A. O.; UNÉDA-TREVISOLI, S. H.; ARRIEL, N. H. C.; BÁRBARO, I. M.; MUNIZ, F. R. S. Ganho genético por diferentes critérios de seleção em populações segregantes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 1095-1102, 2004.
- CRUZ, C. D. **Princípios de genética quantitativa**. Viçosa: UFV, 2005. 390 p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. Viçosa: UFV, 1997. 390 p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2004. 480 p.
- DEMARLY, Y. **Genetique des tetraploides et amelioration des plants**. 1963. 143 f. Tese (Doutorado em Melhoramento Vegetal) - Faculty of Science of the University of Paris, Institut National de la Recherche Agronomique, Paris.
- DUDLEY, J. W. A genetic evaluation of methods of utilizing heterozygosity and dominance in autotetraploids. **Crop Science**, Baltimore, n. 4, p. 410-413, 1964.
- DUDLEY, J. W.; BUSBICE, T. H.; LEVINGS, C. S. Estimates of genetic variance in Cherokee alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Crop Science**, Baltimore, v. 9, p. 228-231, 1969.
- DUDLEY, J. W.; HILL, R. R.; HANSON, C. H. Effects of seven cycles of recurrent phenotypic selection on means and genetic variances of several characters in two pools of alfalfa germoplasm. **Crop Science**, Baltimore, v. 3, p. 543-546, 1963.
- ELSTON, R. C. A weight free index for the purpose of ranking of selection with respect to several traits at a time. **Biometrics**, Washington, v. 19, p. 85-97, 1963.
- FERREIRA, R. P.; BOTREL, M. A.; RUGGIERI, A. C.; PEREIRA, A. V.; COELHO, A. D. F.; LÉDO, F. J. da S.; CRUZ, C. D. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de alfafa em relação a diferentes épocas de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 265-269, 2004.
- FERREIRA, R. P.; PEREIRA, A. V. Melhoramento de forrageiras. In: BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 2005. 969 p.
- FONTES, P. C.; MARTINS, C. E.; CÓSER, A. C.; VILELA, D. Produção e níveis de nutrientes em alfafa (*Medicago sativa* L.) no primeiro ano de cultivo na Zona da Mata de Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 22, p. 205-211, 1993.

- GALLAIS, A. Moyenne des populations tétraploïdes. **Annales de L'Amelioration des Plantes**, Lusignan, v. 18, p. 5-15, 1967.
- HANSON, C. H.; BUSBICE, R. R.; HILL, R. R.; HUNT, O. J.; OAKES, A. J. Directed mass selection for developing multiple pest resistance and conserving germplasm of alfalfa. **Journal Environmental Quality**, Madison, v. 1, p. 106-111, 1972.
- HILL, R. R. O. Selection in autotetraploids. **Theoretical. Applied Genetics**, New York, v. 41, p. 81-186, 1971.
- HILL, R. R.; HAAG, W. L. Comparison of selection methods for autotetraploids. **Crop Science**, Madison, v. 14, p. 587-590, 1974.
- HILL, R. R.; HANSON, C. H.; BUSBICE, T. H. Effect of four recurrent selection programs on two alfalfa populations. **Crop Science**, Madison, v. 9, p. 363-365, 1969.
- JULIER, B.; HUYGHE, C.; ECALE, C. Within and among cultivar genetic variation in alfalfa: Forage quality, morphology in a yield. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 365-369, 2000.
- KEHR, W. R.; GARDNER, C. O. Genetic variability in Ranger alfalfa. **Agronomy Journal**, Madison, v. 52, p. 41-44, 1960.
- KEMPTHORNE, O. The correlation between relatives in a simple autotetraploid population. **Genetics**, Maryland, v. 40, p. 168-174, 1955.
- LEVINGS, D. S.; DUDLEY, J. W. Evolution of certain mating designs for estimation of genetic variance in autotetraploid alfalfa. **Crop Science**, Madison, v. 3, p. 532-535, 1963.
- MOREIRA, A.; EVANGELISTA, A. R.; RODRIGUES, G. H. S. Avaliação de cultivares de alfafa na região de Lavras, Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, p. 407-411, 1996.
- MULAMBA, N. N.; MOCK, J. J. Improvement of potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays* L) population by breeding for plant traits. **Egyptian Journal of Genetics and Cytology**, Giza, v. 7, p. 40-51, 1978.
- PEDERSEN, M. W.; BARNES, D. K. Inheritance of downy mildew resistance in alfalfa. **Crop Science**, Madison, v. 5, p. 4-5, 1965.
- PIRCHNER, F. **Population genetics in animal breeding**. San Francisco: W. H. Freeman, 1969, 414 p.
- RODRIGUEZ, J. A. Mejoramiento genético de la alfalfa. In: BARIGGI, C.; MARBLE, V. L.; ITRIA, C. D.; BRUN, J. M. **Investigación, tecnología y producción de alfalfa**. Manfredi: INTA, 1986, p. 251-323. (Buenos Aires. Colección Científica).
- ROTILI, P. L'autofecondazione nel miglioramento genetico dell'erba medica. **Quaderni sperimentazione**. Istituto Sperimentale per l'è Colture Foraggere, Lod: Italy, 5-69, 1970.
- RUMBAUGH, M. D.; CADDEL, J. L.; ROWE, D. E. Breeding and quantitative genetics. In: HANSON, A. A.; BARNES, D. K.; HILL, R. R. **Alfalfa and alfalfa improvement**. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 1988. p. 777-808 (Agronomy Series, 29).

- SANTOS, C. A. F.; ARAÚJO, F. P. Aplicação de índices para seleção de caracteres agronômicos de feijão-de-corda. **Ciência Agrônoma**, Fortaleza, v. 32, p. 78-84, 2001.
- TWAMLEY, B. E. Recurrent selection in forages. **Plant Breeding Abstracts**, Wallingford, v. 44, p. 613-616, 1974.
- TYSDAL, H. M.; KIESSELBACH, T. A.; WESTOVER, H. L. **Alfalfa breeding**. Lincoln: Univ. of Nebraska, 1942. 46 p. (Agricultural Experiment Station. Research Bulletin, 124).
- VIANDS, D. R.; SUN, P.; BARNES, D. K. Pollination control: mechanical and sterility. In: HANSON, A. A.; BARNES, D. K.; HILL, R. R. (Ed.). **Alfalfa and alfalfa improvement**. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 1988. p. 931-960. (Agronomy Series, 29).
- VILELA, D. **Intensificação da produção de leite: 2. Estabelecimento e utilização da alfafa**. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite, 1998. 28 p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 69).
- WHITTINGTON, W. J.; BUBRAGE, W. S. Inheritance of a ruptured epidermis in alfalfa. **Crop Science**, Madison, v. 3, p. 256-258, 1963.
- WRIGHT, S. Coefficients of inbreeding and relationship. **American Naturalist**, Chicago, v. 56, p. 330-338, 1922.