

CAPÍTULO 4

Genética quantitativa aplicada ao melhoramento da alfafa

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

Introdução

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 boa estabilidade no Brasil é a Crioula, apesar de haver grande demanda por novos lançamentos no mercado (FERREIRA et al., 2004).

O desenvolvimento de novas cultivares de alfafa possibilitará o seu cultivo em diferentes regiões do País, com conseqüente incremento da área de exploração, e assegurará, 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 a pressão de seleção, exercida durante o processo de melhoramento, não incluiu sua adaptação ao ambiente tropical (FERREIRA e PEREIRA, 1999).

O melhoramento genético constitui ferramenta útil para obter 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 e há, assim, maior possibilidade de se obter ganhos efetivos de seleção no melhoramento da espécie (ALLARD, 1971; RUMBAUGH et al., 1988; BASIGALUP, 2007).

Neste capítulo são abordados o sistema reprodutivo e as aplicações da genética quantitativa no melhoramento da alfafa, abrangendo os seguintes temas: segregação e formação de gametas, ganhos por seleção, resposta à seleção, componentes de variância genética, herdabilidade, endogamia, heterose, depressão endogâmica e implicações do modelo autotetraploide no melhoramento da espécie.

Sistema reprodutivo

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

A polinização natural é realizada por abelhas e também por besouros. Esses insetos devem visitar flores diferentes, 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 diploides e tetraploides. O seu número básico de cromossomos é igual a oito. Por se tratar de organismo autotetraploide, a herança dos caracteres em alfafa é complexa, o que influencia seu comportamento genético e condiciona a utilização de alguns métodos específicos de melhoramento.

Genética quantitativa da alfafa

Os métodos biométricos utilizados por melhoristas para aprimorar características relacionadas à produção e à qualidade da alfafa são baseados no modo de produção e de reprodução da espécie, e na sua estrutura genética.

Segregação e formação de gametas

Nas discussões que seguem aceita-se a pressuposição de que a segregação cromossômica em alfafa é aleatória e ignora-se a existência de dupla redução e de pareamento preferencial e a não disjunção dos cromossomos.

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

No gene que possui quatro alelos (tetraploide), podem ser observados cinco possíveis genótipos: o primeiro tem quatro alelos dominantes (AAAA) – denominado “quadrúplex”; o segundo, três alelos dominantes (AAAa) – denominado “tríplex”; o terceiro, dois alelos dominantes (AAaa) – denominado “dúplex”; e o quarto, apenas um alelo dominante (Aaaa) – denominado “símplex”; o quinto, que não tem alelos dominantes (aaaa), é denominado “nulíplex” (BLAKESLEE et al., 1923).

No caso de dominância completa, o caráter dominante será observado quando houver apenas um alelo dominante; assim, o caráter recessivo se manifestará somente no gene nulíplex. Contudo, em alfafa o fenótipo de dominância é expresso somente quando estiverem presentes dois ou mais alelos dominantes (PEDERSEN e BARNES, 1965; WHITTINGTON e BUBRAGE, 1963).

Os indivíduos tetraploides podem produzir diferentes gametas com diferentes probabilidades de segregação, conforme apresentado na Tabela 1. Indivíduos AAAA produzem apenas gametas AA com probabilidade igual a 1, diferentemente de genótipos AAaa, que podem produzir três tipos de gametas diploides: AA com probabilidade 1/6, Aa com probabilidade 4/6 e aa com probabilidade 1/6.

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

Genótipos dos indivíduos	Gametas diploide		
	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

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

Se, em vez de o indivíduo se autofecundar, for realizado o cruzamento-teste, a probabilidade de obtenção do indivíduo nulíplex é de 1/6 (probabilidade de obtenção do gameta aa produzido pelo indivíduo dúplex). Dessa forma, para a 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 autotetraploide, sob diferentes sistemas de acasalamento, é essencial para se compreender o comportamento do melhoramento em espécies autotetraploides. Dessa forma, pode ser estudado o equilíbrio genético da população.

O equilíbrio em uma população autotetraploide pode ser dado pela comparação das frequências gaméticas, produzidas por essa população, em duas ou mais gerações. Assim, 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 (Tabela 2). Será considerado acasalamento ao acaso. A relação genotípica dos descendentes é dada pelo quadrado da relação gamética dos pais, ou seja, a relação genotípica dos descendentes = [relação gamética dos pais]².

Tabela 2. Frequência e gametas diploides dos pais gerados por diferentes genótipos paternos de uma população de plantas autotetraploides.

Genótipo dos pais	Frequência	Gametas diploides 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, com probabilidade = P, $P(AA)_0 = 0,22$; $P(Aa)_0 = 0,16$ e $P(aa)_0 = 0,62$.

A relação genotípica dos descendentes = $(0,22 AA + 0,16 Aa + 0,62 aa)^2$, do que resulta a proporção 0,0484 AAAA: 0,0704 AAAa: 0,2984 AAaa: 0,1984 Aaaa: 0,3844 aaaa.

Na geração 1 dessa população, sua proporção gamética será obtida conforme é mostrado na Tabela 3.

Tabela 3. Frequência e proporção gamética gerada por diferentes genótipos na primeira geração de uma população de plantas autotetraploides.

Genótipo dos filhos	Frequência	Gametas diploides 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:

$P(AA)_1 = 0,1333$; $P(Aa)_1 = 0,3333$ e $P(aa)_1 = 0,5333$.

Nesse caso, verifica-se 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 ele não foi atingido com uma geração de acasalamentos ao acaso. Isso é uma especificidade de populações de autotetraploides, ou seja, o equilíbrio não é alcançado com apenas uma geração de acasalamentos ao acaso, enquanto em populações diploides essa condição é atingida.

Quando se consideram as frequências gaméticas $f(A) = p$ e $f(a) = q$, verifica-se que no equilíbrio essa frequência nas populações dos cinco genótipos de uma população de autotetraploides, em acasalamentos ao acaso, é dada por $(p + q)^4$. No exemplo, com $f(A) = p = 0,3$ e $f(a) = q = 0,7$, obtém-se as frequências mostradas na Tabela 4.

Tabela 4. Frequência genotípica no equilíbrio de Hardy-Weimberg, apresentada por uma população de plantas autotetraploides.

Genótipos	Frequência	Frequência 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, será avaliada a descendência de dado cruzamento que envolva dois indivíduos tetralélicos – indivíduos com os quatro alelos diferentes (Tabela 5).

Tabela 5. Gametas possíveis de serem gerados numa população autotetraploide.

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 obtenção de 36 genótipos na geração F_1 . Contudo, todos os genótipos possíveis serão tetralélicos. Se o pesquisador estiver procurando um genótipo monoalélico (indivíduo com apenas um tipo de alelo), ele não o encontrará com apenas uma geração de acasalamentos entre as plantas F_1 . Dessa forma, uma característica de autotetraploides é apresentada, ou seja, o conjunto dos genótipos monoalélicos, dos genótipos dialélicos (dois tipos de alelos), dos genótipos trialélicos (três tipos de alelos) e dos genótipos tetra-alélicos apenas será obtido após duas gerações de acasalamentos ao acaso (Tabela 6).

Tabela 6. Frequência e estrutura genética de uma população autotetraploide em diferentes gerações.

Geração	Estrutura e suas frequências			
	Monoalélico	Dialélico	Trialélico	Tetra-alélico
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 apresentado na Tabela 6, a frequência da classe dos monoalélicos é reduzida, o que constitui outra característica dos autotetraploides. É possível verificar ainda que o equilíbrio entre essas diferentes classes apenas é obtido com quatro gerações de acasalamentos ao acaso.

Ganhos por seleção

Para a obtenção de genótipos superiores, é necessária a reunião de uma série de atributos favoráveis que confirmam rendimento comparativamente maior e que satisfaçam as exigências do mercado. Com isso, a seleção baseada em uma ou poucas características mostra-se inadequada, pois conduz 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 pelo melhoramento se procura não só o acréscimo na produtividade mas, principalmente, o aumento na qualidade e na aceitabilidade pelos animais 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 obtenção de ganhos no sentido favorável a todas elas, simultaneamente, faz com que sejam implementados critérios de seleção, que não sejam baseados em apenas uma característica ou na seleção indireta. Hill (1971) realizou um estudo de comparação de resposta de seleção em populações diploides e em populações autotetraploides e observou que a resposta à seleção foi mais rápida nas diploides do que nas autotetraploides.

Para ilustração e comparação de ganhos obtidos por seleção em populações diploides e em populações autotetraploides, será considerada a resposta à seleção numa situação em que o alelo a ser selecionado é dominante e em que o gene em estudo, nas duas populações (diploide e autotetraploide), 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 anterior, Δp , que expressa a variação da frequência do alelo selecionado, é função da sua frequência inicial.

No caso de uma população diploide, sabe-se que

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

Na Figura 1 é encontrada a variação da frequência do alelo A selecionado com relação a sua frequência inicial (p) em uma população autotetraploide e em outra diploide. Verifica-se que a taxa de variação na frequência gênica da população tetraploide é bem inferior à da população diploide, o que ilustra a dificuldade de se promover mudanças genéticas nesse tipo de organismo.

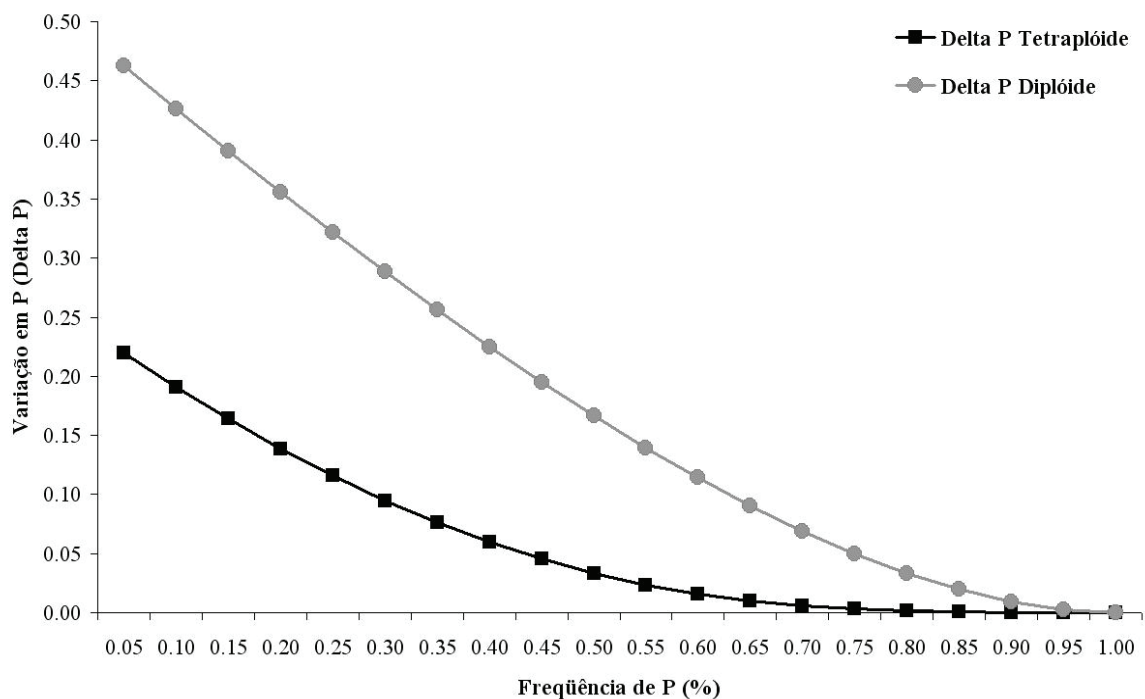


Figura 1. Relação da variação da frequência do alelo p em relação à sua frequência inicial em populações autotetraploides e em populações diploides.

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), estimado com base nos dados mensurados no indivíduo, 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).

Kempthorne (1955) demonstrou que em populações autotetraploides, 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 do valor genotípico $V(G)$, que para 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 locus em estudo; e

μ é a média da população em equilíbrio.

Os demais termos da equação expressam os efeitos que causam o desvio do valor do 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 α, β, γ e δ , respectivamente.

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

Existem trabalhos na literatura que estimaram a variância genética com base na covariância entre parentes e propuseram um procedimento para estimar os componentes de variância genética da alfafa (LEVINGS e DUDLEY, 1963). O esquema sugerido foi um sistema de cruzamento na forma de dialelo parcial em conjunto com a regressão pai-filho e a variância genotípica de clones. Esse esquema foi utilizado por Dudley et al. (1969)

para obter os componentes de variância em alfafa relacionados com produção de matéria seca e tamanho de plantas. Nesse trabalho, foi concluído que os efeitos aditivos e os efeitos digênicos apresentaram maior e menor importância, respectivamente. Já os efeitos trigênicos e os efeitos quadrigênicos ou efeitos epistáticos apresentaram importância relativa sobre a variação no fenótipo dessas duas características.

O estabelecimento de modelos genéticos adquire grande importância na estimação dos componentes de variância e das 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). Com base nessa definição, admite-se que a herdabilidade é função da seleção que se está praticando, se é seleção entre famílias, seleção entre indivíduos, seleção massal estratificada, etc. A herdabilidade ainda depende do esquema experimental utilizado, da característica avaliada, do método de estimação e da diversidade genética da população, entre outros fatores.

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

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

em que

$$h_a^2 = \text{herdabilidade em sentido amplo};$$

$$h_g^2 = \text{variância genética da unidade de seleção}; \text{ e}$$

$$h_f^2 = \text{variância fenotípica da unidade de seleção}.$$

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

$$h^2 = \frac{4\sigma_{px}^2 + 2\text{cov}_{op}}{2\sigma_c^2},$$

em que

$$h^2 = \text{herdabilidade};$$

$$\sigma_{px}^2 = \text{variância entre as progênies do policruzamento};$$

$$\text{cov}_{op} = \text{covariância entre os clones dos pais com as progênies do policruzamento}; \text{ e}$$

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 com a seleção. A possibilidade da predição dos ganhos obtidos por determinada estratégia de seleção constitui uma das principais contribuições da genética quantitativa. Por meio dessas 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:

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

em que

DS = diferencial de seleção, a diferença entre a média dos indivíduos selecionados e a média geral da população.

Por exemplo, se a média anual da população em que se praticar a seleção for de 15 t.ha⁻¹ e se a média anual dos indivíduos selecionados nessa população for de 18 t.ha⁻¹, com herdabilidade de 50%, o ganho com a seleção será:

$$DS = 18 - 15 = 3 \text{ t.ha}^{-1} \text{ e}$$

$$GS = 3 \times 0,5 = 1,5 \text{ t.ha}^{-1}.$$

Endogamia

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

A endogamia traz consequências, tais como o aumento da frequência de homozigotos, com relação a todos os loci, na população. Contudo, essa é uma mudança efêmera, pois, uma vez que o sistema de acasalamento seja mudado, a frequência de homozigotos será novamente reduzida. A endogamia não causa alteração na frequência gênica, ela apenas altera a organização dos alelos nos genótipos.

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

Considere-se o locus 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 corresponde à probabilidade de que ele produzirá gametas com alelos idênticos por ascendência.

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

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

Se r_{xy} for 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 autotetraploide pode ser endogâmica quando seus pais são aparentados ou quando eles são endogâmicos. Os filhos sempre herdam 1/3 da média de endogamia dos pais, quando esses não forem aparentados. Esta é uma característica causada por gametas diploides. 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: $a \equiv b \neq e \neq f$. Se F for a probabilidade de alelos idênticos por ascendência, então:

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

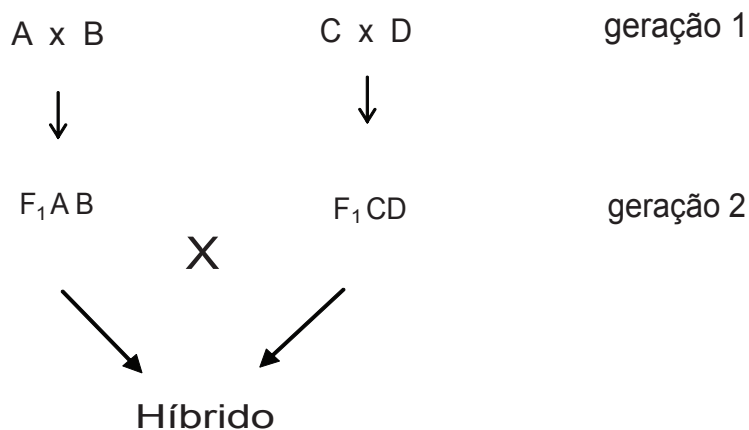
em que a média da endogamia dos pais é $(1 + 0)/2 = 1/2$ e um terço dessa média correspondente a $1/6$, que é a endogamia dos descendentes desses genitores.

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

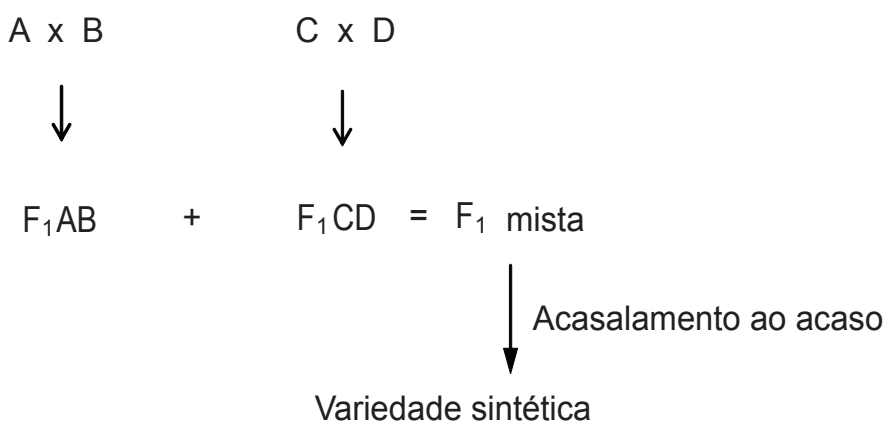
O coeficiente de endogamia pode ser utilizado para comparar diferentes métodos de produção de variedades de alfafa. Para demonstrar essa comparação, são realizados três esquemas hipotéticos em que quatro genitores são utilizados na produção de variedades.

1) Produção de híbrido por duplo cruzamento em duas gerações.

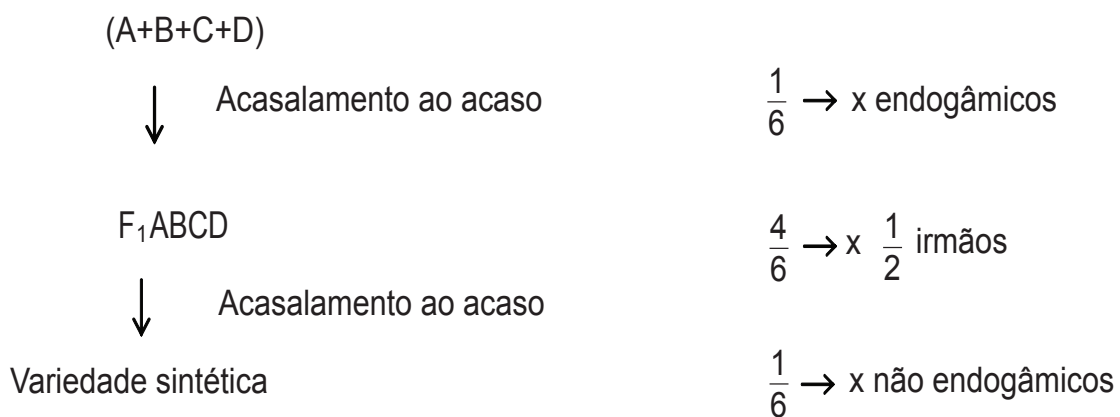
Se os pais forem A, B, C e D, resulta o seguinte esquema:



2) Produção de variedade sintética pelo acasalamento ao acaso de dois indivíduos F₁, originados de pais diferentes:



3) Produção de variedade sintética pelo acasalamento ao acaso dos quatro genitores distintos:



Na pressuposição de que A, B, C e D não sejam aparentados e que possuam grau de endogamia semelhante, correspondendo a F_0 , tem-se, para o caso 1, $a_1 a_2 a_3 a_4 b_1 b_2 b_3 b_4$, a seguinte probabilidade de ocorrência de diferentes gametas envolvendo indivíduos autotetraploides não aparentados indicada na Tabela 7.

Tabela 7. Probabilidade de ocorrência de diferentes gametas envolvendo indivíduos autotetraploides não aparentados.

Gametas de A	Frequência	Gametas de B	Frequência
$a_1 a_2$	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 acontecerá no cruzamento de C com D. Se o cruzamento que fornecerá o híbrido for constituído por indivíduos com dois alelos de cada um dos seus genitores, tem-se para o caso $a_1 a_2 b_1 b_2 \times c_1 c_2 d_1 d_2$, a seguinte probabilidade de ocorrência de diferentes gametas envolvendo indivíduos autotetraploides não aparentados mostrada na Tabela 8.

Tabela 8. Probabilidade de ocorrência de diferentes gametas envolvendo indivíduos autotetraploides não aparentados.

Gametas de A e B	Frequência	Gametas de C e D	Frequência
$a_1 a_1$	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

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

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

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

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

$$P(a_1 \equiv b_1) = P(a_1 \equiv c_1) = P(a_1 \equiv d_1) = P(b_1 \equiv c_1) = P(b_1 \equiv d_1) = P(c_1 \equiv d_1) = 0.$$

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:

no caso de $a_1 a_2 c_1 c_2$, $F = \frac{1}{6} [P(a_1 \equiv a_2) + P(a_1 \equiv c_1) + P(a_1 \equiv c_2) + P(a_2 \equiv c_1) + P(a_2 \equiv c_2) + P(c_1 \equiv c_2)]$

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

Da mesma forma é obtida a endogamia dos 16 genótipos que receberam dois alelos apenas do mesmo progenitor $(a_1 a_2 c_1 d_1, a_1 a_2 c_1 d_2, a_1 a_2 c_2 d_1, a_1 a_2 c_2 d_2, \dots, a_2 b_2 d_1 d_2)$. Por exemplo, para $a_1 a_2 c_1 d_1$ será:

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

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

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

A média do coeficiente de endogamia no híbrido obtido desse cruzamento será dada 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, verifica-se que a média de endogamia deverá ser repetida nesses cruzamentos; portanto, a endogamia do híbrido formado será dada por $\frac{1}{9} F_0$.

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

$$F = \frac{1}{24} + \frac{17}{72} F + s \left[\frac{13}{17} + \frac{5}{24} F_0 + s \left(\frac{1}{12} + \frac{1}{4} F_0 \right) \right],$$

em que s é a frequência de autofecundação dentro dos cruzamentos.

Com base nas equações, observa-se que a obtenção de híbridos gera coeficiente de endogamia menor do que o de variedades sintéticas. Esse 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 aquela obtida com apenas uma geração de acasalamentos ao acaso, quanto aquela obtida por duas gerações de acasalamentos ao acaso, geram-se coeficientes de endogamia semelhantes.

Heterose e depressão endogâmica

A alfafa é uma espécie muito sensível à depressão por endogamia. Assim, 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 o híbrido simples, o híbrido triplo e o híbrido duplo produziram 38%, 39% e 45% mais forragem do que as variedades originais.

Rotili (1970) relatou que em três gerações de autofecundação acompanhada de seleção intencional o vigor obtido nas progênies 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 combinações gênicas não conhecidas.

Determinar o grau efetivo de endogamia dentro do 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 por meio da endogamia e da seleção.

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

Dudley (1964) relatou que, dentre todos os possíveis cruzamentos simples e duplos, entre indivíduos quadrúplex, tríplex, dúplex, símplex ou nulíplex, além de seus S_1 , S_2 , S_3 e de suas progênies 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 progênies, sendo reduzido o efeito da seleção entre os cruzamentos.

Modelos matemáticos foram apresentados para tentar descrever a depressão endogâmica e também a heterose em autotetraploides. Dentre tais modelos, tem-se o de Busbice e Wilsie (1966), em que as estruturas genótípicas são dadas por T_0 (quadrúplex), T_1 (tríplex), T_2 (dúplex), T_3 (símplex) e T_4 (nulíplex) 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 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:

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

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

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

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

em que

VG = valor genotípico da estrutura;

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

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

iii, ijl, il e jkl = valores das interações de segunda ordem;

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

Se considerarmos que a média da população é dada pelo total dos efeitos aditivos e dos valores somados das interações dos genes, 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. Como a heterose resulta de interação heterogênica entre alelos não idênticos, a interação 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, de segunda e de terceira ordem, respectivamente.

Por meio dos valores genotípicos, verifica-se que os genótipos portadores das estruturas tetragênicas e trigênicas 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. Esses autores observaram também que a depressão endogâmica em alfafa é relacionada com a taxa pela qual as interações de primeira ordem são perdidas por loci tetragênicos e loci trigênicos. As perdas dessas interações por loci digênicos não são rápidas nem suficientes para explicar a depressão endogâmica.

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

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

Melhoramento genético

Modelo autotetraploide: Implicação no melhoramento

As considerações sobre genética quantitativa apresentadas anteriormente acarretam implicações no melhoramento genético da alfafa. Para obtenção de todos os genótipos possíveis de dado cruzamento, serão necessárias, no mínimo, duas gerações de acasalamentos ao acaso e não apenas uma geração, como é o caso de diploides, a fim de que todos os genótipos se manifestem. Se o pesquisador estiver à procura de genótipos extremos, nulíplex ou quadrúplex, 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 sua frequência é reduzida na população.

Outra característica importante dos autotetraploides é que eles alcançam o equilíbrio gamético de forma assintótica, porque os gametas diploides não permitem a obtenção dos genótipos formados por todos os arranjos possíveis em uma só geração, como ocorre em organismos diploides. De maneira geral, o equilíbrio é alcançado após quatro ou cinco gerações de acasalamentos ao acaso nos autotetraploides (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 duas situações:

- 1) A autofecundação seguida de seleção como método de melhoramento pode ser um problema, tornando 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 que vise à obtenção de 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).

Considerações finais

A existência de mecanismos de autoincompatibilidade e de autoesterilidade em alfafa favorece a alogamia. Porém, a natureza autotetraploide da espécie tem profundas implicações no comportamento e na estrutura genética das populações, particularmente na segregação e na formação dos gametas, na estimação dos componentes de variância, nos ganhos por seleção e na necessidade de produzir pelo menos duas gerações de acasalamentos ao acaso para obter todos os genótipos possíveis de um cruzamento. Complementarmente, a alfafa manifesta marcada depressão por endogamia, o que condiciona os métodos de melhoramento a serem utilizados e evidencia a importância de se utilizar progenitores divergentes.

Referências

- Alfafa em área de influência da Mata Atlântica no Estado de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, p. 1437-1442, 2001.
- 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 of 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.
- 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.
- 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 heterozygosis and dominance in autotetraploids. **Crop Science**, Baltimore, v. 4, p. 410-413, 1964.
- DUDLEY, J. W.; BUSBICE, T. H.; LEVINGS, C. S. Estimates of genetic variance in Cherokee alfafa (*Medicago sativa* L.). **Crop Science**, Baltimore, v. 9, p. 228-231, 1969.
- 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, 1999. p. 649- 677.
- GALLAIS, A. Moyenne des populations tétraploides. **Annales de L'Amelioration des Plantes**, Lusignan, v. 18, p. 5-15, 1967.
- HILL, R. R. O. Selection in autotetraploids. **Theoretical Applied Genetics**, New York, v. 41, p. 81-186, 1971.
- KEHR, W. R.; GARDNER, C. O. Genetic variability in ranger alfafa. **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 alfafa. **Crop Science**, Madison, v. 3, p. 532-535, 1963.
- PEDERSEN, M. W.; BARNES, D. K. Inheritance of downy mildew resistance in alfafa. **Crop Science**, Madison, v. 5, p. 4-5, 1965.
- RODRIGUEZ, J. A. Mejoramiento genético de la alfafa. In: BARIGGI, C.; MARBLE, V. L.; ITRIA, C. D.; BRUN, J. M. (Ed.). **Investigación, tecnología y producción de alfafa**. Manfredi: INTA, Colección Científica, 1986, p. 251-323. (INTA. Colección Científica).
- ROTILI, P. L'autofecondazione nel miglioramento genetico dell'erba medica. **Quaderni sperimentazione**. Instituto Sperimentale per le Colture Foraggere, Lodi, Italy, n.1, p. 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. **Alfafa and alfafa improvement**. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 1988. p. 777-808. (Agronomy Series, 29).
- TYSDAL, H. M.; KIESSELBACH, T. A.; WESTOVER, H. L. **Alfafa breeding**. Lincoln: Univ. of Nebraska, 1942. 46 p. (Agricultural Experiment Station. Research Bulletin, 124).
- WHITTINGTON, W. J.; BUBRAGE, W. S. Inheritance of a ruptured epidermis in alfafa. **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.

