

Comparação entre ganhos genéticos previstos e observados do material policlonal de variedades antigas de videira

Sónia Cristina Carvalho Retroz Moreira Marques

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Agronómica

Orientador: Professora Doutora Elsa Maria Félix Gonçalves

Júri:

Presidente: Doutor Carlos Manuel Antunes Lopes, Professor associado com agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais: Doutora Elsa Maria Félix Gonçalves, Professora auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa, orientadora;

Doutora Maria Isabel Carrasquinho de Freitas, Investigadora auxiliar do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária.

2022

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Superior de Agronomia e ao Banco Santander agradeço o Prémio de Incentivo ao Mestrado concedido no primeiro ano de mestrado.

À Professora Elsa Gonçalves agradeço toda a disponibilidade, orientação, amizade, e por todos os conhecimentos transmitidos, que certamente levarei para a vida.

A todos os técnicos e investigadores da Rede Nacional de Seleção da Videira e Associação Portuguesa para a Diversidade da Videira (PORVID) pelo apoio na gestão dos ensaios de seleção e na obtenção dos dados usados neste trabalho.

Ao projeto “Conservação e Seleção de Castas Antigas de Videira” (PDR 784 – 042704).

A todos os professores do Instituto Superior de Agronomia que contribuíram para a minha formação, pelos conhecimentos transmitidos e todas as competências profissionais e pessoais que me ensinaram.

À minha família, pelo apoio de todas as horas, nas de alegria e nas de sofrimento, e pelo tempo que abdiquei com eles para que este trabalho fosse realizado.

À Francisca, à Sofia e ao Gonçalo agradeço todo o apoio, amizade e ajuda na condução deste trabalho, e a todos os amigos que sempre estiveram presentes mesmo nos momentos mais difíceis.

RESUMO

No contexto atual da viticultura, avaliar a variabilidade intravarietal e fazer seleção policlonal de um grupo superior de genótipos relativamente a características economicamente relevantes é de extrema importância, uma vez que torna possível obter e prever elevados ganhos genéticos de seleção e manter algum grau de variabilidade genética em novas vinhas instaladas.

Com este estudo pretendeu-se validar os ganhos genéticos previstos de seleção, fazendo a comparação entre ganhos genéticos previstos e ganhos observados da característica rendimento.

Foram ajustados modelos lineares mistos aos dados de rendimento obtidos ao longo de vários anos em ensaios de várias castas com o objetivo de estimar a componente de variância genotípica, calcular a heritabilidade em sentido lato e prever do ganho genético de seleção.

Os resultados obtidos com este trabalho metodológico constituem mais um contributo para a demonstração das vantagens da seleção policlonal. Para todas as castas estudadas, foi detetada variabilidade genética intravarietal do rendimento, possibilitando a obtenção de elevados ganhos genéticos para essa característica, acima de 20% para 50% dos casos estudados. Demonstrou-se a importância da qualidade do ensaio, traduzida pelo maior valor de heritabilidade em sentido lato e pelo maior número de anos de avaliação de uma característica, no sucesso da realização da seleção. Fazendo a comparação entre ganhos genéticos previstos e ganhos observados da característica rendimento, em geral, para todas as castas estudadas, os ganhos observados de rendimento encontram-se incluídos na gama de valores prevista para os ganhos genéticos.

PALAVRAS-CHAVE (5): Seleção policlonal, ganho genético, *Vitis vinifera* L., variabilidade genética intravarietal, modelos mistos.

ABSTRACT

In the current context of viticulture, evaluating intra-varietal variability and performing polyclonal selection of a superior group of genotypes for economically relevant traits is of utmost importance, since it makes it possible to obtain and predict high genetic gains from selection and to maintain some degree of genetic variability in new planted vineyards.

This study intends to validate the predicted genetic gains of selection, making the comparison between predicted genetic gains and observed gains of the yield.

Linear mixed models were fitted to the yield data obtained over several years in field trials of several varieties with the aim of estimating the genotypic variance component, calculating the broad-sense heritability, and predicting the genetic gain of selection.

The results obtained with this methodological work constitute a further contribution to the demonstration of the advantages of polyclonal selection. For all the varieties studied, intra-varietal genetic variability of yield was detected, making it possible to obtain high genetic gains for this trait, above 20% for 50% of the cases studied. The importance of the quality of the field trial, namely the greatest value of broad sense heritability and the greatest number of years of evaluation of a trait, was demonstrated for the success of the selection process. When comparing the predicted genetic gains and observed gains of the yield, in general, for all the varieties studied, the observed gains for yield are included in the range of values predicted for the genetic gains.

KEYWORDS (5): Polyclonal selection, genetic gain, *Vitis vinifera* L., intravarietal genetic variability, mixed models.

ÍNDICE DE TEXTO

1. Introdução.....	7
1.1 Enquadramento do tema.....	7
1.2 Objetivos do estudo.....	7
2. Revisão Bibliográfica	8
2.1 A importância da seleção das castas antigas no contexto de melhoramento genético de videira	8
2.2 Metodologia de seleção policlonal e clonal	9
2.2.1 Primeira fase: Prospeção e amostragem de plantas-mãe em videiras antigas ...	10
2.3.2 Segunda fase: ensaios de campo com os genótipos prospetados para seleção policlonal e conservação da diversidade	11
2.2.3 Terceira fase: ensaios de comparação clonal regionais.....	11
2.3 Fundamentos de genética quantitativa.....	12
2.3.1 Os valores fenotípico e genotípico	12
2.3.2 Cálculo da heritabilidade	13
2.3.3 Cálculo do ganho genético.....	14
2.3.4 A interação genótipo x ambiente	15
2.4 Estudos anteriores referentes à seleção policlonal em castas antigas de videira..	16
3. Materiais e Métodos	18
4. Resultados e Discussão	25
5. Conclusões.....	34
6. Referências bibliográficas.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Metodologia para a seleção policlonal e clonal e conservação da diversidade da videira (adaptado de Gonçalves & Martins, 2022b).	10
Figura 2 - Ensaio de campo para seleção e conservação da variabilidade intravarietal no Pólo Experimental de Conservação da Diversidade da Videira da Associação Portuguesa para a Diversidade da Videira, Pegões [Fonte: Gonçalves & Martins, 2020].	17

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 - Castas estudadas, local e delineamento experimental dos respetivos ensaios ..	18
Quadro 2 - Indicadores de variabilidade genética intravarietal do rendimento e ganhos genéticos previstos ao fazer a seleção de um grupo de 15 clones superiores em rendimento, em populações experimentais de clones de 15 castas	27
Quadro 3 - Ganhos genéticos previstos ao selecionar grupos de 20, 30 e 40 clones superiores em rendimento para 8 castas em 2 locais	31
Quadro 4 - Intervalo de predição a 99% de confiança para o ganho genético previsto, em percentagem da média população, ao selecionar um grupo de 10 clones superiores em rendimento num dos ensaios e o respetivo ganho observado, em percentagem da média, no outro ensaio	32

1. Introdução

1.1 Enquadramento do tema

A seleção policlonal - seleção de um grupo superior de genótipos (7 a 20) relativamente a características economicamente importantes - é de extrema importância no contexto atual da viticultura. Trata-se de um tipo de material selecionado para o qual é possível obter e prever elevados ganhos genéticos de seleção, é pouco sensível à interação genótipo x ambiente e permite manter nas novas vinhas instaladas algum grau de variabilidade genética. As vantagens deste tipo de material foram reconhecidas em 2019 pela Organização Internacional da Vinha e do Vinho (Resolução OIV-VITI 564B-2019).

Face a este contexto, torna-se muito importante um estudo metodológico que permita avaliar as discrepâncias entre os ganhos genéticos previstos no momento da seleção policlonal, realizada no primeiro ensaio de seleção instalado para esse fim, e os ganhos observados obtidos nas próprias vinhas plantadas com o material. Para tal, serão ajustados modelos lineares mistos aos dados de rendimento obtidos ao longo de vários anos em ensaios de várias castas com os objetivos de obter os melhores preditores empíricos lineares não enviesados (EBLUPs) dos efeitos genotípicos e de prever e comparar os ganhos genéticos de seleção obtidos nos diferentes ensaios. Trata-se de mais uma contribuição para provar as vantagens do material selecionado policlonal e da sua importância para a sustentabilidade do sector vitivinícola.

1.2 Objetivos do estudo

Este trabalho tem como objetivo geral estudar as características do material policlonal selecionado para o rendimento, característica com avaliação expedita e uma das economicamente mais importantes. Especificamente, pretende-se demonstrar várias vantagens da utilização desse material para o sector vitivinícola, nomeadamente demonstrando que: (1) é um material que é selecionado com previsão dos ganhos genéticos de seleção; (2) ao usar uma amostra representativa da variabilidade genética de uma casta, a seleção policlonal efetuada para o rendimento transporta o mesmo nível de ganhos genéticos quando é garantida a qualidade do ensaio onde é realizada seleção; (3) existe correspondência entre os ganhos genéticos previstos ao selecionar o material policlonal com os ganhos observados em posteriores plantações.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 A importância da seleção das castas antigas no contexto de melhoramento genético de videira

O melhoramento de plantas constitui uma das mais preponderantes e valiosas estratégias com vista ao aumento da produtividade e melhoria da qualidade dos produtos agrícolas de forma sustentável e equilibrada, sobretudo quando consideramos o cenário atual de difícil produção de alimentos e consequente ineficiente supressão das necessidades alimentares mundiais. Por outro lado, constata-se que nos últimos cinquenta anos, metade do incremento da produtividade das principais culturas, entre as quais a videira, se atribui a tecnologias de melhoramento genético (Leão & Borges, 2009).

Segundo Badu-Apraku et al. (2014), estudos acerca de ganhos genéticos são cruciais para identificar características de potencial valor, bem como estratégias e metodologias que assegurem um progresso acrescido no que diz respeito ao melhoramento de plantas.

A videira é uma importante cultura agrícola em Portugal e a nível internacional (Gonçalves et al., 2013a) cuja maioria das variedades utilizadas para a produção de vinho foi domesticada há vários séculos a partir de plantas selvagens de *Vitis vinífera* spp. *sylvestris* (Gonçalves & Martins, 2012). A viticultura é primeiramente referenciada em território português no séc. II a.C. (Surgy, 2018). A propagação assexuada da videira assegurou um certo nível de homogeneidade nos primeiros anos, contudo, as variedades tornaram-se gradualmente heterogêneas devido à sua antiguidade e, principalmente, devido à acumulação de mutações somáticas ao longo dos vários séculos de cultivo e propagação (Gonçalves et al., 2013a).

Segundo Regina (2004) e Gonçalves et al. (2013a), é desde 1950 que se conhece a existência de variabilidade dentro de variedades de videira, sendo que, hoje em dia os aspetos desejados em melhoramento desta cultura são quase exclusivamente relativos a características quantitativas, daí que os métodos utilizados para a sua seleção incluam a genética quantitativa.

Há sensivelmente 43 anos que é feita em Portugal a seleção e conservação da variabilidade intravarietal de castas antigas de videira, com o objetivo de conservar uma amostra de genótipos representativa da variabilidade genética intravarietal. Esta variabilidade genética dentro das variedades antigas de videira é a base para a seleção e inovação no setor vitivinícola (Gonçalves et al., 2019; Gonçalves & Martins, 2012).

Atualmente estão conservados 30 000 genótipos de mais de 204 variedades antigas, 64 variedades estão em processo de seleção e 185 ensaios de campo de seleção foram

plantados (Gonçalves & Martins, 2022b), sendo que os primeiros materiais policlonais selecionados começaram a ser distribuídos aos viticultores desde 1984, e desde 2005, 150 clones de 24 variedades foram obtidos (Martins & Gonçalves, 2015).

2.2 Metodologia de seleção policlonal e clonal

Segundo Falconer & Mackay (1989), a seleção de espécies consiste em destacar da população um conjunto de genótipos superiores usando-os como reprodutores, em vez de toda a população.

No caso concreto da videira, em Portugal a seleção iniciou-se em 1978 seguindo a metodologia francesa clássica de seleção clonal, na qual era feita uma observação fenotípica individual de plantas em vinhas velhas durante quatro anos. No entanto, a ineficiência da seleção fenotípica foi sendo comprovada e, a partir de então, foi desenvolvida especificamente em Portugal uma metodologia distinta das demais tradicionais (Martins et al., 1987), aplicada em Portugal pela “Rede Nacional de Seleção da Videira”/ “Associação Portuguesa para a Diversidade da Videira” (PORVID) – e recomendada a sua aplicação pela Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV) através da resolução OIV-VITI 564B-2019 (International Organisation of Vine and Wine, 2019) (Figura 1). Em termos gerais, os objetivos dessa metodologia são focados: (1) na quantificação da variabilidade genética dentro da variedade (componente da variância genotípica); (2) na avaliação do potencial sucesso da seleção genética efetuada através do cálculo de parâmetros de genética quantitativa, como a heritabilidade em sentido lato; (3) na seleção de um grupo superior de genótipos (seleção policlonal) escolhidos de acordo com a classificação dos seus melhores preditores lineares não enviesados empíricos (EBLUPs) dos efeitos genotípicos para determinada característica; (4) no cálculo do ganho genético previsto (média dos EBLUPs dos genótipos selecionados) (Gonçalves et al., 2013b).

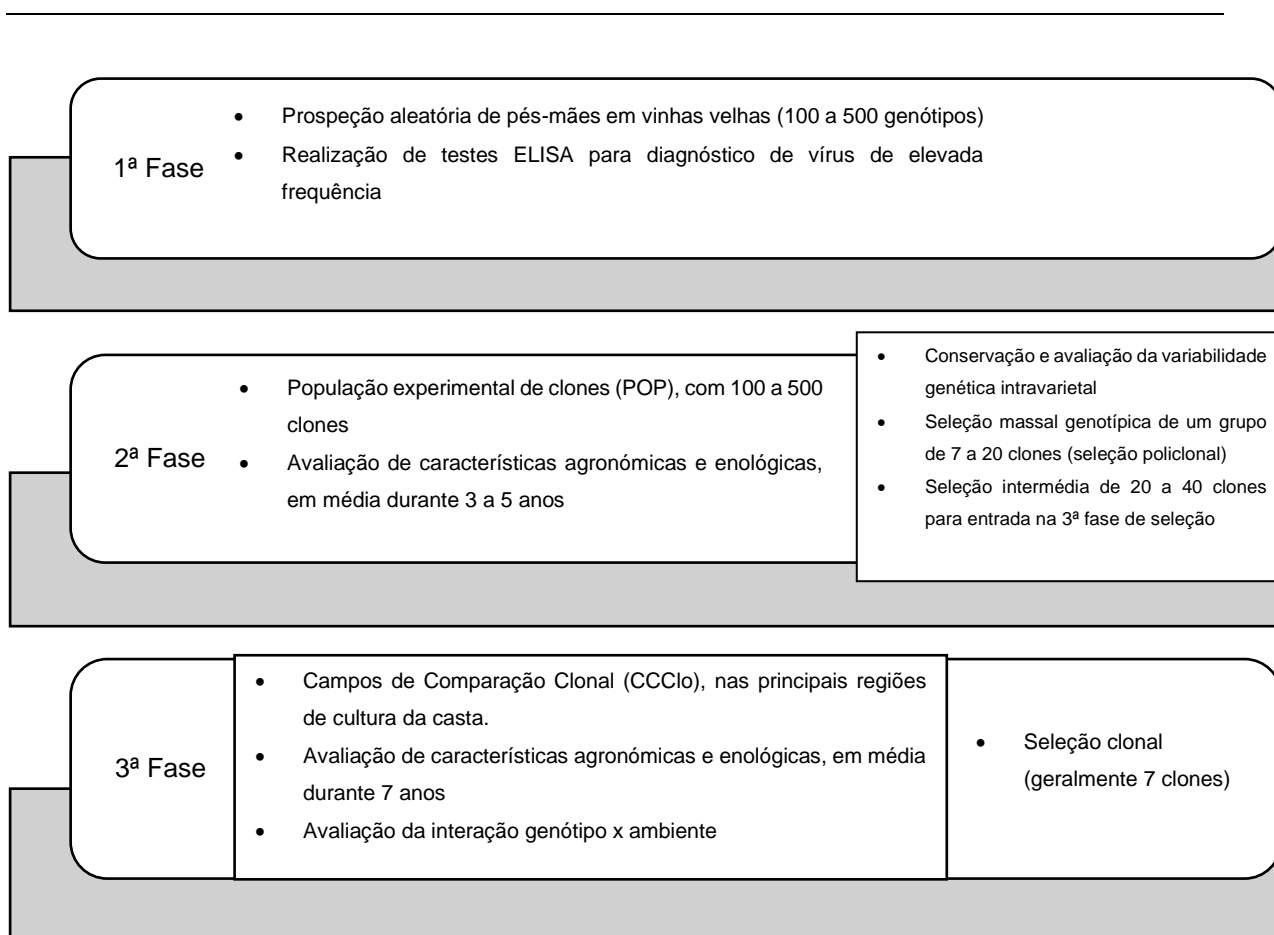


Figura 1 - Metodologia para a seleção policlonal e clonal e conservação da diversidade da videira (adaptado de Gonçalves & Martins, 2022b).

2.2.1 Primeira fase: Prospeção e amostragem de plantas-mãe em videiras antigas

Preferencialmente, prospetam-se, no mínimo, 70 genótipos em cada região onde a casta é intensamente cultivada desde há muito tempo, garantindo a conservação da entidade casta com toda a sua diversidade (Gonçalves & Martins, 2020).

A conservação desta variabilidade intravarietal pode ser feita de duas formas: 1) conservação com intuito único de conservação da variabilidade para o futuro, que, sem necessidade de realizar delineamento experimental, se guardam as plantas em vasos ou no campo; 2) conservação em ensaios de campo com objetivo de seleção e utilização imediata por parte do sector vitivinícola (Gonçalves & Martins, 2020).

O novo método português propõe a realização de uma amostragem aleatória de 100 a 500 pés-mães (dependendo da casta) logo no primeiro ano de prospeção.

2.3.2 Segunda fase: ensaios de campo com os genótipos prospetados para seleção policlonal e conservação da diversidade

Para que se possa utilizar a diversidade intravarietal é necessário quantificar a variabilidade genética e selecionar com previsão dos ganhos genéticos relativamente às principais características de interesse (Gonçalves & Martins, 2020). A diversidade genética intravarietal acumulada ao longo de vários séculos é a matéria-prima para qualquer seleção genética, o que faz com que quanto maior for a variabilidade intravarietal, maiores serão os ganhos obtidos com a seleção e, conseqüentemente, maior será a capacidade de resposta aos novos desafios presentes e futuros (Gonçalves & Martins, 2019).

Para tal, deve ser avaliada de forma eficiente, procedendo-se, para isso, à instalação de ensaios de campo com delineamento experimental eficiente, tipicamente da família dos blocos incompletos, como os delineamentos linha-coluna resolúveis, frequentemente referidos como uns dos mais eficientes no controlo da variabilidade espacial em ensaios com grande dimensão (Gonçalves & Martins, 2019). Nestes ensaios faz-se a colheita de dados de rendimento, sólidos solúveis, acidez, antocianinas e outras características (como tolerância a stresses bióticos e abióticos) a partir do terceiro ano após a plantação e durante 3 a 5 anos, seguindo-se a análise de dados baseados em modelos mistos, considerando dados de vários anos (Gonçalves & Martins, 2022b).

No final desta fase é realizada a seleção policlonal, com elevados ganhos genéticos e económicos para características agronómicas e enológicas (Gonçalves & Martins, 2020; Gonçalves et al., 2019). Assim, o material policlonal é um grupo de genótipos superiores selecionados a partir deste campo experimental inicial que contém uma amostra representativa (100 – 500 genótipos) da variabilidade genética existente dentro da variedade (Martins & Gonçalves, 2015).

2.2.3 Terceira fase: ensaios de comparação clonal regionais

Após uma seleção intermédia de 20 a 40 genótipos oriundos da segunda fase de seleção, deve ser instalado pelo menos um ensaio em cada uma das principais regiões onde a variedade é tradicionalmente cultivada (Campos de Comparação Clonal).

Esta terceira fase tem aproximadamente a duração de 7 anos e tem como objetivos a avaliação agronómica e enológica, com ênfase na avaliação da interação genótipo \times ambiente ($G \times E$), bem como no diagnóstico de vírus constantes da legislação de certificação e de fungos do lenho. Daqui resulta a seleção de 7 clones que são submetidos a homologação oficial, e que após aprovação, são comercializados como material certificado (Gonçalves & Martins, 2020).

2.3 Fundamentos de genética quantitativa

A genética quantitativa estuda as características quantitativas, sendo estas determinadas pela interação simultânea de vários genes e pelo ambiente (Falconer & Mackay, 1989). Segundo estes mesmos autores, esta área científica tem como preocupação a quantificação e divisão da variação fenotípica nas componentes genética e ambiental.

Segundo Brown et al. (2014), as características quantitativas são usualmente mais difíceis de avaliar devido ao facto de apresentarem maior potencial de modificação da sua expressão por causas ambientais e pelo amplo número de genes envolvidos no seu controlo. Assim, um delineamento experimental mais exigente, envolvendo, por exemplo, um maior número de repetições e de plantas por parcela (unidade experimental) é necessário para maximizar a resposta à seleção. Como consequência, a seleção de características quantitativas é reconhecidamente um processo longo e complexo.

2.3.1 Os valores fenotípico e genotípico

Segundo Falconer & Mackay (1989), o valor que observamos na altura da medição de um característica é o denominado valor fenotípico (P), este, por sua vez é resultado da soma do valor genotípico (G) e desvio ambiental (E):

$$P = G + E \quad (1)$$

Por hipótese, se a média do desvio ambiental for zero, então a média do valor fenotípico será igual ao valor genotípico para os indivíduos com o mesmo genótipo.

Por outro lado, o valor genotípico (G) é a parte do valor fenotípico (P) constituído pelo valor aditivo ou reprodutivo (A), que é dado pelo valor médio dos seus descendentes quando cruzado ao acaso com os outros elementos da população, ou seja, traduz o que determinado indivíduo efetivamente transmite à sua descendência; o desvio de dominância (D) que representa a diferença entre o valor genotípico e fenotípico quando considerado um único *locus*; e o desvio epistático (I) que se deve à capacidade que algumas combinações específicas de alelos em determinados *loci* têm para influenciar a expressão dos alelos de outro *locus*:

$$G = A + D + I \quad (2)$$

2.3.2 Cálculo da heritabilidade

Quando se estudam características quantitativas, para se alcançar um progresso economicamente significativo no melhoramento de plantas, tem que existir variabilidade fenotípica observável dentro da cultura com uma importante origem genética (Brown et al., 2014).

Em Falconer & Mackay (1989), a heritabilidade em sentido lato traduz a proporção da variância fenotípica que tem origem genotípica, e pode ser determinada pela relação:

$$h^2 = V_G / V_P \quad (3)$$

em que V_G é a variância genotípica e V_P a variância fenotípica. A heritabilidade pode variar de 0 até 1. Se a heritabilidade for elevada, isto é, próxima de 1, existe potencial para que um programa de melhoramento altere a expressão principal do carácter em futuras gerações; por outro lado, se este valor calculado se situar próximo de 0, não haverá justificação para efetuar seleção, pois toda a variabilidade é de origem ambiental.

Em Falconer & Mackay (1989), V_P é dada pela soma de duas componentes, a variância genética V_G e variância ambiental V_E :

$$V_P = V_G + V_E \quad (4)$$

O modelo apresentado assenta em dois pressupostos: o primeiro é de que não existe correlação entre valores genotípicos e ambientais, e o outro é de que não existe interação entre genótipo e ambiente.

Na prática conseguem-se as estimativas destas componentes de variância para as várias características de interesse através do ajustamento de modelos lineares (Searle et al., 1992). De forma muito simples é possível entender como se chega a estas componentes de variância. Por exemplo, Mestre (1996) refere que utilizando várias repetições de um mesmo clone, o valor obtido para as diferentes observações corresponde a uma estimativa da variância fenotípica. Contudo, visto que clones são geneticamente idênticos, o valor da variância genotípica é zero e a variância fenotípica corresponderá a uma estimativa da variância ambiental.

Calculando-se a variância fenotípica total, dada pela variância de todas as repetições e todos os clones, subtraindo a valor anteriormente obtido da variância ambiental, é possível obter uma estimativa da variância genotípica:

$$H^2 = (V_p - V_E) / V_p \quad (5)$$

2.3.3 Cálculo do ganho genético

Segundo Gonçalves et al. (2013b), o cálculo do ganho genético previsto corresponde à média dos EBLUPs dos efeitos genotípicos dos genótipos selecionados. Em modelos simples de genética quantitativa (modelos com apenas um fator de efeitos aleatórios), Falconer & Mackay (1989) apresenta a expressão clássica de ganho genético de seleção. Para se calcular o ganho genético é necessário conhecer o diferencial de seleção e a heritabilidade em sentido lato, uma vez que a propagação da videira se faz vegetativamente, ou seja, todo o valor genotípico é transmitido à descendência.

Classicamente, o ganho genético de seleção (R) é dado pela equação (Falconer & Mackay, 1989):

$$R = h^2 \times S \quad (6)$$

Em que h^2 é a heritabilidade e S o diferencial de seleção (definido como a diferença entre o valor fenotípico médio dos indivíduos selecionados e o valor fenotípico de todos os indivíduos). O diferencial de seleção (S) seria equivalente ao designado ganho genético (R) se não existissem desvios ambientais, o que não acontece. Como tal, devido aos desvios ambientais e outras causas, o ganho genético é inferior ao diferencial de seleção.

Também é possível calcular o diferencial de seleção (S) de forma mais genérica em função do desvio padrão fenotípico (σ_p) e da intensidade de seleção (i), segundo a seguinte expressão (Falconer & Mackay, 1989):

$$S = i \sigma_p \quad (7)$$

Assim sendo, o ganho previsto (R) poderá ser também calculado através da expressão:

$$R = i h^2 \sigma_p \quad (8)$$

Pelas expressões anteriores torna-se claro que ao selecionar grupos de clones superiores, o ganho genético torna-se mais elevado se a variabilidade genética da população

em causa for elevada. Da mesma forma, verifica-se que o ganho genético de seleção será tanto maior quanto maior for o valor da heritabilidade. Também, quanto menor for a proporção de seleção (ou seja, a relação entre o número de indivíduos selecionados e o total de indivíduos da população), maior será o ganho de seleção.

2.3.4 A interação genótipo x ambiente

Um dos maiores objetivos da seleção avançada é determinar a resposta de determinados genótipos selecionados perante diferentes ambientes, pelo que há que ter em consideração a interação de cada genótipo em cada tipo de ambiente diferente (Brown et al., 2014). Segundo estes últimos autores, a interação $G \times E$ ocorre porque alguns genótipos têm melhor *performance* em determinados ambientes, enquanto que em outros nem tanto. Por outro lado, as cultivares que apresentam menor rendimento poderão exceder as de maior rendimento quando colocadas em condições mais favoráveis.

A interação $G \times E$ afeta características ao longo de todas as fases de um programa de seleção de plantas, e por norma, não é possível avaliar de forma integral o fenómeno $G \times E$ até fases mais avançadas da seleção (Brown et al., 2014).

No contexto de clones de videira, também em Martins & Gonçalves (2015) pode ler-se que a interação $G \times E$ traduz as alterações observadas num determinado clone em consequência de alterações ambientais. Estas modificações devem-se a especificidades de cada combinação $G \times E$, e não somente de características isoladas do ambiente. Isto significa que cada clone terá uma reação diferente quando expostos ao mesmo ambiente.

Segundo Mestre (1996), a garantia de estabilidade do rendimento constitui uma característica particularmente importante nas condições portuguesas, uma vez conhecida a elevada heterogeneidade de condições edafo-climáticas e práticas culturais vigentes na viticultura nacional. Como tal, torna-se essencial avaliar a sensibilidade que cada clone tem a determinado ambiente, fazendo a seleção dos mais estáveis, através de modelos mistos adequados, e sempre de um número plural de clones (pelo menos 7) (Martins & Gonçalves, 2015). De forma alternativa, a seleção policlonal (seleção de um grupo de clones) é uma das estratégias a seguir para ultrapassar o problema da interação $G \times E$ conforme a Resolução OIV-VITI 564B-2019 (International Organisation of Vine and Wine, 2019).

2.4 Estudos anteriores referentes à seleção policlonal em castas antigas de videira

A metodologia de seleção policlonal da videira foi desenvolvida em Portugal (Martins et al., 1990), por isso, as referências que existem sobre os seus resultados práticos são relativas a trabalhos desenvolvidos pela equipa que a implementou.

Nos vários estudos já efetuados em variedades antigas de videira, foi possível comprovar a existência de variabilidade intravarietal para o rendimento e para outras características, nomeadamente, características de qualidade do mosto. Consequentemente, foram já obtidos ganhos genéticos de seleção em todas essas características (Gonçalves & Martins, 2022b). Segundo Gonçalves & Martins (2019), com a seleção policlonal em castas antigas de videira conseguiram-se ganhos genéticos de rendimento de +16,7 a +58,4% e de características de qualidade do mosto de +2,8 a +13,2%.

De forma geral, são apontadas várias vantagens ao material selecionado policlonal, entre as quais se destacam (Gonçalves & Martins, 2020; Gonçalves & Martins, 2022b): (1) a rapidez de obtenção do material selecionado – 5 a 6 anos após o início do ensaio (fase 2 da metodologia descrita na Figura 1; (2) obtenção de ganhos de seleção elevados e previstos com precisão; (3) ser pouco sensível à interação $G \times E$; (4) permitir manter nas novas vinhas instaladas algum grau de variabilidade genética; (5) e os critérios de seleção serem bastante flexíveis. Para além destas vantagens, pelo facto de a videira ser uma espécie perene e os ensaios de campo com amostra representativa da diversidade intravarietal (Figura 2) serem mantidos por vários anos, é possível a realização de várias seleções policlonais ao longo do tempo, podendo a seleção ser executada e modificada de acordo com os objetivos contemporâneos da viticultura (rendimento, qualidade do mosto, tolerância a stresses abiótico e biótico). Todas estas vantagens descritas constituem diferenças fundamentais comparativamente às metodologias tradicionais de seleção clonal ainda utilizadas mundialmente (Cobb et al., 2019; Gonçalves & Martins, 2022b; Gonçalves & Martins, 2013b).



Figura 2 - Ensaio de campo para seleção e conservação da variabilidade intravarietal no Pólo Experimental de Conservação da Diversidade da Videira da Associação Portuguesa para a Diversidade da Videira, Pegões
[Fonte: Gonçalves & Martins, 2020].

3. Materiais e Métodos

A informação referente às castas estudadas neste trabalho, bem como a descrição detalhada dos seus ensaios, encontra-se no Quadro 1.

Quadro 1 - Castas estudadas, local e delineamento experimental dos respetivos ensaios

Casta	Local	Anos de avaliação	Nº clones	Delineamento
Antão Vaz	Évora	1988, 1989, 1990	210	RCBD: rep = 5, pl = 5
Antão Vaz	Pegões	2019	110	RCD: rep = 6, pl = 3, k = 11, s = 10
Arinto	Pegões	2019, 2020, 2021	165	RCD: rep = 6, pl = 3, k = 11, s = 15
Arinto	Setúbal	1995, 1998, 1999, 2000	247	RCBD: rep = 5, pl = 4
Bastardo	Alijó	2007, 2009, 2010	272	RCBD: rep = 4, pl = 3
Bastardo	Pegões	2018, 2019, 2020, 2021	374	RCD: rep = 4, pl = 3, k = 17, s = 22
Batoca	Castelo Branco	2021	92	RCD: rep = 5, pl = 5, k = 5, s = 19
Castelão	Palmela	2012, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019	270	RCD: rep = 5, pl = 3, k = 18, s = 15
Cerceal Branco	Alijó	2009, 2011, 2012, 2013, 2015, 2019	50	RCBD: rep = 5, pl = 3
Encruzado	Nelas	2004, 2005, 2006, 2007, 2011, 2019	179	RCBD: rep = 5, pl = 3
Encruzado	Alijó	2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021	180	RCD: rep = 4, pl = 3, k = 10, s = 18
Fonte Cal	Covilhã	2010, 2011, 2012, 2013, 2015, 2019	220	RCBD: rep = 5, pl = 3
Gouveio	Pegões	2020, 2021	154	RCD: rep = 5, pl = 3, k = 14, s = 11
Grenache	Tomelloso (Espanha)	1999, 2000, 2001, 2002	215	RCBD: rep = 5, pl = 3
Grenache	Pegões	2020, 2021	126	RCD: rep = 6, pl = 3, k = 6, s = 21
Moreto	Pegões	2020, 2021	66	RCD: rep = 6, pl = 3, k = 11, s = 6
Moscatel Graúdo	Palmela	1989, 1990, 1991	187	CRD: rep = 5, pl = 4
Moscatel Graúdo	Pegões	2000, 2003, 2015	99	RCBD: rep = 4, pl = 4

Quadro 1 (cont.) - Castas estudadas, local e delineamento experimental dos respetivos ensaios

Casta	Local	Anos de avaliação	Nº clones	Delineamento
Tinta Barroca	Vilariga	2001, 2005	190	RCBD: rep = 5, pl = 4
Tinta Barroca	Reguengos de Monsaraz	2008, 2009, 2019	210	RCBD: rep = 4, pl = 3
Tinta Caiada	Reguengos de Monsaraz	2008, 2009	208	RCD: rep = 5, pl = 3, k = 13, s = 20
Tinta Caiada	Pegões	2020, 2021	220	RCD: rep = 6, pl = 3, k = 11, s = 16
Touriga Franca	Alverca da Beira	2010, 2011, 2019	110	RCBD: rep = 5, pl = 3

CRD – Delineamento totalmente casualizado; RCBD - Delineamento em blocos completos casualizados; RCD - Delineamento linha-coluna resolúvel; rep - repetição (bloco completo); k - número de linhas dentro de um bloco completo; s - número de colunas dentro de um bloco completo; pl - plantas por unidade experimental.

Como se pode verificar através do Quadro 1, foi feito o estudo de castas em duas vertentes distintas: castas com ensaios em apenas um local, e castas com ensaios em dois locais. As castas com ensaio em apenas um local são: Batoca, Castelão, Cerceal Branco, Fonte Cal, Gouveio, Moreto e Touriga Franca. As castas com ensaios em dois locais são: Antão Vaz, Arinto, Bastardo, Encruzado, Grenache, Moscatel Graúdo, Tinta Barroca e Tinta Caiada.

A característica usada para avaliar os ganhos genéticos do material policlonal foi o rendimento (kg/planta). Trata-se de uma característica economicamente muito importante e já amplamente reconhecida como tendo grande variabilidade intravarietal (Martins et al., 1990). Os anos de avaliação do rendimento nos ensaios encontram-se também mencionados no Quadro 1.

A avaliação do rendimento nos ensaios de campo é extremamente rigorosa, de modo a minimizar os desvios ambientais. A vindima de cada parcela no campo (unidade experimental), geralmente constituída por 3 plantas (Quadro 1), é controlada por um técnico, e a uva correspondente é pesada, e o seu peso anotado em folhas de registo.

Foram ajustados modelos lineares mistos aos dados de rendimento (kg/planta) obtidos ao longo de vários anos nos ensaios das várias castas descritas no Quadro 1. De facto, ao nível das análises feitas no contexto da genética quantitativa focada em seleção, os modelos lineares mistos são os eleitos (Gonçalves & Martins, 2022b). Os modelos lineares mistos são de grande utilidade e importância prática, uma vez que generalizam o modelo linear clássico, nomeadamente, permitindo considerar fatores de efeitos fixos e aleatórios e estruturas de (co)variâncias mais complexas (McCulloch, 1996).

Um dos modelos mais usados para a análise de dados colhidos nos ensaios da fase 2 da metodologia descrita na Figura 1, resulta de um modelo referente a um delineamento experimental em blocos completos casualizados (o mais simples seria o resultante de casualização global). Uma vez que o número de clones nesses ensaios é elevado, as unidades experimentais em cada bloco completo foram dispostas segundo uma grelha linha \times coluna, constituindo cada bloco completo uma repetição resolúvel. Sendo assim, o modelo linear para a análise dos dados de um ensaio organizado segundo um delineamento experimental em blocos completos casualizados (RCBD), assumindo os efeitos dos blocos completos como aleatórios, pode revestir a seguinte forma (Gonçalves, 2008):

$$y = X\beta + Z_g u_g + Z_r u_r + e.$$

Considerando n observações, p efeitos fixos, q_1 genótipos e q_2 repetições resolúveis (blocos completos), tem-se que:

$y_{(n \times 1)}$ é o vetor de observações;

$X_{(n \times p)}$ é a matriz de delineamento associada aos efeitos fixos, $\beta_{(p \times 1)}$ é o vetor de efeitos fixos; $u_{g_{(q_1 \times 1)}}$ é o vetor de efeitos genotípicos e $Z_g = 1_{q_2} \otimes I_{q_1}$ é a matriz delineamento de dimensão $(n \times q_1)$ associada aos efeitos genotípicos (sendo 1_{q_2} um vetor com q_2 elementos 1, I_{q_1} uma matriz identidade de dimensão $(q_1 \times q_1)$ e \otimes o produto de Kronecker de matrizes);

$u_{r_{(q_2 \times 1)}}$ é o vetor de efeitos das repetições resolúveis (blocos completos) e $Z_r = I_{q_2} \otimes 1_{q_1}$ é a respetiva matriz de delineamento de dimensão $(n \times q_2)$ (sendo 1_{q_1} um vetor com q_1 elementos 1, I_{q_2} uma matriz identidade de dimensão $(q_2 \times q_2)$ e \otimes o produto de Kronecker de matrizes);

$e_{(n \times 1)}$ representa o vetor de erros aleatórios.

Uma vez que todos os fatores do modelo se admitiram de efeitos aleatórios, $X\beta$ reduz-se a $1_n \mu$, sendo 1_n um vetor com n elementos 1 e μ a média geral da população.

Os vetores u_g , u_r , e e admitem-se mutuamente independentes com distribuição normal multivariada de vetor de valores médios nulo e matrizes de variâncias - covariâncias dadas por:

$$Var[u] = G = G_g \oplus G_r, \text{ com } G_g = \sigma_g^2 I_{q_1} \text{ e } G_r = \sigma_r^2 I_{q_2},$$

$$Var[e] = R = \sigma_e^2 I_n,$$

$$Var[y] = V = Z_g G_g Z_g^T + Z_r G_r Z_r^T + \sigma_e^2 I_n.$$

No caso de ensaios com delineamento experimental linha-coluna resolúvel (RCD), o modelo de análise dos dados pode ser escrito matricialmente como (Gonçalves, 2008):

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}_g\mathbf{u}_g + \mathbf{Z}_r\mathbf{u}_r + \mathbf{Z}_{col(r)}\mathbf{u}_{col(r)} + \mathbf{Z}_{li(r)}\mathbf{u}_{li(r)} + \mathbf{e}.$$

Para n observações, p efeitos fixos, q_1 genótipos, q_2 repetições resolúveis, q_3 colunas por repetição e q_4 linhas por repetição, resulta que:

$\mathbf{y}_{(n \times 1)}$ é o vetor de observações;

$\mathbf{X}_{(n \times p)}$ é a matriz de delineamento associada aos efeitos fixos e $\boldsymbol{\beta}_{(p \times 1)}$ o vetor de efeitos fixos;

$\mathbf{u}_g_{(q_1 \times 1)}$ é um vetor cujos elementos representam os efeitos genotípicos e $\mathbf{Z}_g = \mathbf{1}_{q_2} \otimes \mathbf{I}_{q_1}$ é a respetiva matriz de delineamento, de dimensão $(n \times q_1)$ (sendo $\mathbf{1}_{q_2}$ um vetor com q_2 elementos 1, \mathbf{I}_{q_1} uma matriz identidade de dimensão $(q_1 \times q_1)$ e \otimes o produto de Kronecker de matrizes);

$\mathbf{u}_r_{(q_2 \times 1)}$ é um vetor cujos elementos representam os efeitos das repetições resolúveis e $\mathbf{Z}_r = \mathbf{I}_{q_2} \otimes \mathbf{1}_{q_1}$ é a respetiva matriz de delineamento, de dimensão $(n \times q_2)$ (sendo $\mathbf{1}_{q_1}$ um vetor com q_1 elementos 1, \mathbf{I}_{q_2} uma matriz identidade de dimensão $(q_2 \times q_2)$ e \otimes o produto de Kronecker de matrizes);

$\mathbf{u}_{col(r)}_{((q_2 \times q_3) \times 1)}$ é um vetor cujos elementos representam os efeitos das colunas dentro das repetições e $\mathbf{Z}_{col(r)} = \mathbf{I}_{q_3} \otimes \mathbf{1}_{q_4} \otimes \mathbf{I}_{q_2}$ é a respetiva matriz de delineamento, de dimensão $(n \times (q_2 \times q_3))$ (sendo $\mathbf{1}_{q_4}$ um vetor com q_4 elementos 1, \mathbf{I}_{q_2} uma matriz identidade de dimensão $(q_2 \times q_2)$, \mathbf{I}_{q_3} uma matriz identidade de dimensão $(q_3 \times q_3)$ e \otimes o produto de Kronecker de matrizes);

$\mathbf{u}_{li(r)}_{((q_2 \times q_4) \times 1)}$ é um vetor cujos elementos representam os efeitos das linhas dentro das repetições e $\mathbf{Z}_{li(r)} = \mathbf{I}_{q_4} \otimes \mathbf{1}_{q_3} \otimes \mathbf{I}_{q_2}$ é a respetiva matriz de delineamento, de dimensão $(n \times (q_2 \times q_4))$ (sendo $\mathbf{1}_{q_3}$ um vetor com q_3 elementos 1, \mathbf{I}_{q_2} uma matriz identidade de dimensão $(q_2 \times q_2)$, \mathbf{I}_{q_4} uma matriz identidade de dimensão $(q_4 \times q_4)$ e \otimes o produto de Kronecker de matrizes);

$\mathbf{e}_{(n \times 1)}$ é o vetor de erros aleatórios.

Os vetores \mathbf{u}_g , \mathbf{u}_r , $\mathbf{u}_{col(r)}$, $\mathbf{u}_{li(r)}$, e \mathbf{e} admitem-se mutuamente independentes com distribuição normal multivariada de vetor de valores médios nulo e matrizes de variâncias - covariâncias são dadas por:

$$Var[\mathbf{u}] = \mathbf{G} = \mathbf{G}_g \oplus \mathbf{G}_r \oplus \mathbf{G}_{col(r)} \oplus \mathbf{G}_{li(r)},$$

com

$$\mathbf{G}_g = \sigma_g^2 \mathbf{I}_{q_1}, \quad \mathbf{G}_r = \sigma_r^2 \mathbf{I}_{q_2}, \quad \mathbf{G}_{col(r)} = \sigma_{col(r)}^2 \mathbf{I}_{(q_2 \times q_3)} \quad \text{e} \quad \mathbf{G}_{li(r)} = \sigma_{li(r)}^2 \mathbf{I}_{(q_2 \times q_4)},$$

$$Var[\mathbf{e}] = \mathbf{R} = \sigma_e^2 \mathbf{I}_n,$$

$$Var[\mathbf{y}] = \mathbf{V} = \mathbf{Z}_g \mathbf{G}_g \mathbf{Z}_g^T + \mathbf{Z}_r \mathbf{G}_r \mathbf{Z}_r^T + \mathbf{Z}_{col(r)} \mathbf{G}_{col(r)} \mathbf{Z}_{col(r)}^T + \mathbf{Z}_{li(r)} \mathbf{G}_{li(r)} \mathbf{Z}_{li(r)}^T + \sigma_e^2 \mathbf{I}_n.$$

A distribuição do vetor \mathbf{y} admite-se normal multivariada, com vetor de valores médios $\mathbf{X}\boldsymbol{\beta}$ e matriz de variâncias - covariâncias \mathbf{V} : $\mathbf{Y} \cap \mathcal{N}_n(\mathbf{X}\boldsymbol{\beta}, \mathbf{V})$.

Nos modelos lineares mistos descritos anteriormente as componentes de variância σ_g^2 , σ_r^2 , $\sigma_{col(r)}^2$, $\sigma_{li(r)}^2$, e σ_e^2 foram estimadas método de máxima verosimilhança restrita (REML) (Patterson & Thompson, 1971).

Nos modelos lineares mistos descritos anteriormente os estimadores dos efeitos fixos e os preditores dos efeitos aleatórios são obtidos através das equações do modelo misto (Henderson, 1975; Searle et al., 1992). Concretamente, o melhor preditor empírico linear não enviesado (EBLUP) do vetor \mathbf{u} é dado por:

$$\tilde{\mathbf{u}} = \mathbf{GZ}^T \mathbf{V}^{-1} (\mathbf{Y} - \mathbf{X}\hat{\boldsymbol{\beta}}).$$

Com o ajustamento deste tipo de modelo no contexto da quantificação da variabilidade intravarietal e seleção, os grandes objetivos são estimar as componentes de variância (com base nas quais se avalia, por exemplo, a variabilidade genética intravarietal) e testar a existência de variabilidade genética intravarietal. Este último teste baseia-se num teste de razão de verosimilhanças restritas, descrito da seguinte forma:

$$1) \text{ Hipóteses: } H_0: \sigma_g^2 = 0 \text{ vs } H_1: \sigma_g^2 > 0;$$

2) Estatística do teste de razão de verosimilhanças restritas e respetiva distribuição,

$$\Lambda = 2(l_{R_1} - l_{R_0}) \sim \chi^2_v,$$

sendo l_{R_1} a log-verossimilhança restrita associada ao modelo definido em H_1 e l_{R_0} a log-verossimilhança restrita associada ao modelo definido em H_0 ; os graus de liberdade (v) são dados pela diferença entre o número de parâmetros variância dos dois modelos. Neste caso adotou-se a opção conservativa de admitir 1 grau de liberdade;

3) Para o nível de significância (α) definido, rejeita-se H_0 se $\Lambda_{calc} > \chi^2_{\alpha(v)}$.

Para a análise da variabilidade intravarietal de cada variedade e previsão dos ganhos de seleção policlonal, utilizou-se a média de rendimento dos vários anos avaliados e foram ainda calculados os indicadores seguidamente descritos.

(1) Precisão da quantificação da diversidade intravarietal, quantificada pelo rácio $\hat{\sigma}_g^2/SE$ (onde $\hat{\sigma}_g^2$ é a estimativa da variância genotípica do rendimento e SE é o erro padrão associado a essa estimativa); quanto maior for o valor deste rácio, maior será a precisão associada à quantificação da diversidade intravarietal.

(2) Uma medida generalizada de heritabilidade em sentido lato adaptada de Gonçalves et al. (2013) para avaliar a proporção da variabilidade fenotípica devida a causas genéticas e assim avaliar a eficiência da seleção:

$$H^2 = 1 - \frac{\overline{PEV}}{\hat{\sigma}_g^2},$$

em que \overline{PEV} representa a média da variância dos erros de predição dos efeitos genotípicos.

(3) Melhores preditores empíricos lineares não enviesados (EBLUPs) dos efeitos genotípicos (a parte da diferença entre a média fenotípica do genótipo e a média global da população, que é explicada por causas genéticas). O ganho genético previsto (R) com a seleção policlonal, em percentagem da média população estudada, foi calculado segundo a seguinte expressão:

$$R_{sel}(\%) = \frac{\text{Média dos EBLUPs dos efeitos genotípicos dos clones selecionados}}{\text{Média geral do rendimento da população}} \times 100.$$

(4) Intervalo de predição para o ganho genético previsto de seleção policlonal, com coeficiente de confiança $1 - \alpha$, definido como:

$$\left[\text{Ganho genético previsto} - z_{1-\frac{\alpha}{2}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^k PEV_i}{k^2}}, \text{Ganho genético previsto} + z_{1-\frac{\alpha}{2}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^k PEV_i}{k^2}} \right]$$

em que k é o número de clones selecionados, PEV_i é a variância do erro de predição associada ao EBLUP do efeito genotípico do clone i e z_* o quantil * de uma distribuição normal reduzida.

Numa primeira fase, para todas as castas estudadas foram calculados os ganhos genéticos previstos do rendimento ao selecionar os 15 clones superiores em rendimento (ou seja, os 15 clones com maiores valores de EBLUP do efeito genotípico do rendimento) e respetivos intervalos de predição a 95% de confiança.

Numa segunda fase, nas castas estudadas em dois locais, foram comparados os ganhos genéticos previstos ao selecionar os 20, 30 e 40 clones superiores em rendimento e respetivos intervalos de predição a 95% de confiança.

Numa terceira fase, nas castas estudadas em dois locais, com mais de 3 anos de avaliação (Arinto, Bastardo, Encruzado, Grenache e Moscatel Graúdo), foi realizada a análise dos dados apenas com os clones comuns nos dois ensaios. Para cada uma dessas castas, no ensaio com maior número de anos de avaliação de rendimento ou com maior número de repetições e heritabilidade, foi realizada a seleção policlonal (grupo de 10 clones superiores em rendimento e com maior estabilidade de comportamento nos diferentes anos), com respetivo intervalo de predição a 99% de confiança para o ganho genético de seleção. Este conjunto de clones selecionados foi usado para cálculo do ganho observado no outro ensaio da casta (o ganho observado foi calculado como a diferença entre o rendimento médio do grupo selecionado e a média geral da população). Desta forma, pretende-se avaliar se os ganhos genéticos previstos de seleção são, de facto, observados quando esse material é colocado noutro local.

4. Resultados e Discussão

No Quadro 2 apresentam-se os resultados referentes à análise da variabilidade intravarietal do rendimento de todas as castas estudadas, bem como os ganhos genéticos previstos ao fazer a seleção de um grupo de 15 clones superiores em rendimento (seleção policlonal).

Como se pode verificar pela análise do Quadro 2, para todas as castas, a variabilidade genética intravarietal do rendimento foi significativa ($p\text{-value} < 0,01$) e os valores de heritabilidade em sentido lato foram, em geral, elevados, variando de 0,326 (casta Touriga Franca) a 0,823 (casta Gouveio).

Os ensaios que apresentaram maiores valores de heritabilidade do rendimento (acima de 0,70) foram os referentes às castas Gouveio, Tinta Caiada, Arinto, Antão Vaz (Évora), Grenache (Pegões) e Castelão. Estes resultados sugerem que a seleção a favor do rendimento será eficiente nestas castas, proporcionando elevados ganhos genéticos de seleção. De facto, observando os resultados obtidos para o ganho genético, confirma-se que as castas com maiores ganhos previstos (R%) são Tinta Caiada, Arinto (Setúbal), Gouveio, Bastardo (Alijó). A casta Batoca, apesar de apresentar um valor de heritabilidade mais moderado, mas pelo facto de conter elevada variabilidade intravarietal, apresenta também elevado valor de ganho genético previsto de rendimento.

Os ensaios que apresentaram valores de heritabilidade em sentido lato entre 0,50 e 0,70 foram os referentes às castas Antão Vaz (Pegões), Grenache (Tomelloso), Moscatel Graúdo, Encruzado, Cerceal Branco, Bastardo e Batoca. São também resultados muito interessantes, pois quando realizada a seleção dos 15 clones superiores em rendimento, os ganhos genéticos previstos continuam a ser muito importantes, em geral, superiores a 20%, exceto no caso da casta Cerceal Branco.

Os ensaios que apresentaram menores valores de heritabilidade (entre 0,30 e 0,50) foram os referentes às castas Touriga Franca, Fonte Cal, Moreto e Tinta Barroca. Consequentemente, foram estas castas que apresentaram menores níveis de variabilidade intravarietal e menores ganhos genéticos previstos de rendimento. A casta Cerceal Branco, como já mencionado, apesar de apresentar um valor de heritabilidade mais elevado comparativamente às castas anteriormente referidas, também se encontra entre as castas com menores ganhos genéticos. No entanto, nestas castas, apesar dos ganhos genéticos previstos serem menores, continuam a ser sempre significativos. Estes menores ganhos genéticos previstos estão de acordo com os resultados de Gonçalves & Martins (2022a).

Para as castas Batoca, Gouveio e Moreto este é o primeiro trabalho a apresentar os ganhos genéticos previstos de rendimento ao fazer seleção policlonal. Trata-se de resultados preliminares, uma vez que os dados de Batoca dizem respeito a 1 ano e os de Gouveio e Moreto a 2 anos. A avaliação desta e de outras características irá continuar durante vários anos (idealmente, pelo menos, 4-6 anos de avaliação, segundo Gonçalves & Martins (2022b), mas estes resultados preliminares indicam claramente que uma futura seleção policlonal de Gouveio e de Batoca será realizada com elevados ganhos genéticos de rendimento. Contrariamente, a seleção do Moreto será realizada com ganhos modestos.

Observando os valores previstos para os ganhos genéticos e seus respectivos intervalos de predição, os valores de heritabilidade em sentido lato e o valor da precisão associada à estimativa da variância genética do rendimento ($\hat{\sigma}_g^2/SE$), é possível perceber uma clara relação entre a amplitude de variação dos intervalos de predição e os valores de heritabilidade e de precisão associada à estimativa da variância genética. Ou seja, quanto maior o valor de heritabilidade, maior a precisão associada à estimativa da variância genética e menor a amplitude do intervalo de predição.

Quadro 2 - Indicadores de variabilidade genética intravarietal do rendimento e ganhos genéticos previstos ao fazer a seleção de um grupo de 15 clones superiores em rendimento, em populações experimentais de clones de 15 castas

Casta	Local	Rendimento médio da população (kg/planta)	$\hat{\sigma}_g^2$ (SE)	$\hat{\sigma}_g^2/SE$	H^2	$R_{15}(\%)$	Intervalo de predição a 95% de confiança para $R_{15}(\%)$
Antão Vaz	Pegões	8,936	1,825 (0,454) (<i>p-value</i> <0,001)	4,019	0,552	+18,885	[+13,766; +24,004]
	Évora	2,945	0,378 (0,048) (<i>p-value</i> <0,001)	7,894	0,777	+32,482	[+27,488; +37,477]
Arinto	Pegões	5,259	1,298 (0,179) (<i>p-value</i> <0,001)	7,236	0,802	+30,753	[+25,876; +35,630]
	Setúbal	1,390	0,123 (0,014) (<i>p-value</i> <0,001)	8,839	0,802	+40,227	[+34,536; +45,919]
Batoca	Castelo Branco	2,165	0,349 (0,080) (<i>p-value</i> <0,001)	4,346	0,637	+36,669	[+28,275; +45,064]
Bastardo	Pegões	4,563	0,587 (0,084) (<i>p-value</i> <0,001)	7,022	0,637	+23,988	[+18,867; +29,110]
	Alijó	1,837	0,160 (0,021) (<i>p-value</i> <0,001)	7,678	0,678	+36,410	[+30,159; +42,662]
Castelão	Algeruz	5,873	1,450 (0,182) (<i>p-value</i> <0,001)	7,950	0,706	+30,438	[+24,809; +36,066]
Cerceal Branco	Alijó	3,027	0,164 (0,052) (<i>p-value</i> <0,001)	3,149	0,641	+11,477	[+7,423; +15,532]
Encruzado	Alijó	3,042	0,199 (0,037) (<i>p-value</i> <0,001)	5,329	0,580	+18,397	[+13,588; +23,207]
	Nelas	2,266	0,146 (0,032) (<i>p-value</i> <0,001)	4,566	0,532	+22,208	[+16,362; +28,054]
Fonte Cal	Covilhã	2,352	0,071 (0,020) (<i>p-value</i> <0,001)	3,549	0,357	+14,579	[+9,987; +19,171]
Gouveio	Pegões	3,737	0,696 (0,099) (<i>p-value</i> <0,001)	7,063	0,823	+39,389	[+34,685; +44,093]
Grenache	Pegões	5,850	1,187 (0,213) (<i>p-value</i> <0,001)	5,571	0,710	+21,740	[+16,677; +26,803]
	Tomelloso (Espanha)	1,129	0,052 (0,009) (<i>p-value</i> <0,001)	5,810	0,582	+28,100	[+21,462; +34,738]

$\hat{\sigma}_g^2$, estimativa da variância genotípica e respetivo erro padrão (SE); $\hat{\sigma}_g^2/SE$ precisão associada à estimativa da variância genotípica; H^2 , Heritabilidade em sentido lato; $R_{15}(\%)$, ganho genético previsto, em percentagem da média da população, ao selecionar o grupo dos 15 melhores clones em rendimento e respetivo intervalo de predição a 95% de confiança.

Quadro 2 (cont.) - Indicadores de variabilidade genética intravarietal do rendimento e ganhos genéticos previstos ao fazer a seleção de um grupo de 15 clones superiores em rendimento, em populações de clones de 15 castas

Casta	Local	Rendimento médio da população (kg/planta)	$\hat{\sigma}_g^2$ (SE)	$\hat{\sigma}_g^2/SE$	H ²	R ₁₅ (%)	Intervalo de predição a 95% de confiança para R ₁₅ (%)
Moreto	Pegões	6,407	0,221 (0,102) (p-value 0,002)	2,175	0,416	+5,824	[+2,987; +8,661]
Moscatel Graúdo	Pegões	5,809	0,667 (0,165) (p-value <0,001)	4,033	0,589	+16,047	[+11,488; +20,607]
	Palmela	2,120	0,202 (0,033) (p-value <0,001)	6,153	0,647	+29,421	[+23,025; +35,818]
Tinta Barroca	Reguengos	1,765	0,114 (0,025) (p-value <0,001)	4,557	0,464	+26,337	[+19,255; +33,419]
	Vilariça	1,331	0,061 (0,025) (p-value <0,001)	2,462	0,440	+17,822	[+10,780; +24,863]
Tinta Caiada	Pegões	5,877	2,624 (0,308) (p-value <0,001)	8,506	0,815	+40,867	[+34,875; +46,860]
	Reguengos	2,104	0,358 (0,050) (p-value <0,001)	7,161	0,706	+43,872	[+36,064; +51,681]
Touriga Franca	Pinhel	1,803	0,048 (0,020) (p-value <0,002)	2,358	0,326	+12,433	[+7,390; +17,477]

$\hat{\sigma}_g^2$, estimativa da variância genotípica e respetivo erro padrão (SE); $\hat{\sigma}_g^2/SE$ precisão associada à estimativa da variância genotípica; H², Heritabilidade em sentido lato; R₁₅(%), ganho genético previsto, em percentagem da média da população, ao selecionar o grupo dos 15 melhores clones em rendimento e respetivo intervalo de predição a 95% de confiança.

Numa segunda fase do trabalho, fez-se um estudo metodológico com o objetivo de avaliar as discrepâncias entre os ganhos genéticos previstos ao realizar a seleção de uma casta com base em dois ensaios instalados com uma amostra representativa dessa casta. Os resultados referentes a este estudo encontram-se no Quadro 3.

De entre as 8 castas analisadas em 2 locais, as que obtiveram maiores ganhos genéticos com a seleção dos melhores 20, 30 e 40 clones em rendimento foram Tinta Caiada, Bastardo e Arinto. Em contrapartida, as que apresentaram valores mais baixos de ganhos genéticos de rendimento foram a Tinta Barroca e Moscatel Graúdo. Como esperado, é possível perceber que a amplitude do intervalo de predição vai diminuindo à medida que aumentamos o número de clones do grupo selecionado. Isto é, quanto maior o grupo selecionado, maior será a precisão associada à previsão do ganho genético da seleção policlonal.

Ao analisar estes resultados, observa-se que em algumas castas os ganhos genéticos previstos de rendimento são muito semelhantes nos 2 ensaios, como por exemplo, nas castas Encruzado e Tinta Caiada. Noutros casos observaram-se discrepâncias na previsão do ganho genético de rendimento nos dois locais. Este resultado está relacionado com o valor de heritabilidade e com o número de anos em que o rendimento foi avaliado no ensaio. Isto é, na casta Antão Vaz, como esperado, os maiores ganhos de seleção foram obtidos no ensaio de Évora (com mais anos de avaliação e que apresentou maior valor de heritabilidade, Quadro 2). No ensaio de Arinto, os maiores ganhos genéticos de seleção foram obtidos no ensaio de Setúbal, ensaio em que o rendimento foi avaliado em mais anos (Quadro 1), logo, a seleção será realizada com maior precisão com base nos dados deste ensaio. Nos ensaios de Moscatel Graúdo, Bastardo e Tinta Barroca, os maiores ganhos de seleção foram obtidos nos ensaios que apresentaram maiores valores de heritabilidade, Palmela, Alijó e Reguengos, respetivamente (Quadro 2).

Estes resultados demonstram a importância da qualidade do ensaio, traduzida pelo valor de heritabilidade em sentido lato e pelo número de anos de avaliação de uma característica, no sucesso da realização da seleção. De facto, decorre da teoria da genética quantitativa (Falconer & Mackay, 1989) que quanto maior o valor de heritabilidade em sentido lato, maior o ganho genético de seleção. Por outro lado, quanto maior o número de anos em que cada casta é analisada, maior a precisão da seleção realizada (Gonçalves & Martins (2022b).

É importante realçar que estes são os primeiros resultados referentes à comparação de ganhos genéticos a obter com a seleção policlonal quando realizada em dois ensaios distintos.

Quadro 3 - Ganhos genéticos previstos ao selecionar grupos de 20, 30 e 40 clones superiores em rendimento para 8 castas em 2 locais

Casta	Local	Grupo selecionado	R (%)	Intervalo de predição a 95% de confiança para R (%)
Antão Vaz	Pegões	20 clones	+16,838	[+12,405; +21,271]
		30 clones	+13,756	[+10,136; +17,375]
		40 clones	+11,363	[+8,228; +14,497]
	Évora	20 clones	+30,299	[+25,974; +34,625]
		30 clones	+27,399	[+23,807; +30,871]
		40 clones	+25,148	[+22,090; +28,207]
Arinto	Pegões	20 clones	+28,726	[+24,502; +32,949]
		30 clones	+25,673	[+22,225; +29,122]
		40 clones	+23,363	[+20,376; +26,349]
	Setúbal	20 clones	+37,557	[+32,628; 42,487]
		30 clones	+33,508	[+29,483; +37,532]
		40 clones	+30,888	[+27,402; +34,373]
Bastardo	Pegões	20 clones	+23,099	[+18,664; +27,535]
		30 clones	+21,148	[+17,527; +24,769]
		40 clones	+19,626	[+16,489; +22,762]
	Alijó	20 clones	+34,338	[+28,924; +39,752]
		30 clones	+30,741	[+26,320; +35,161]
		40 clones	+28,009	[+24,180; +31,837]
Encruzado	Alijó	20 clones	+17,492	[+13,327; +21,657]
		30 clones	+15,590	[+12,189; +18,991]
		40 clones	+14,300	[+11,355; +17,245]
	Nelas	20 clones	+20,791	[+15,729; +25,854]
		30 clones	+18,686	[+14,552; +22,819]
		40 clones	+16,903	[+13,323; +20,482]
Grenache	Pegões	20 clones	+19,991	[+15,606; +24,375]
		30 clones	+17,426	[+13,846; +21,006]
		40 clones	+15,361	[+12,261; +18,462]
	Tomelloso (Espanha)	20 clones	+25,887	[+20,138; +31,635]
		30 clones	+22,681	[+17,988; +27,375]
		40 clones	+20,221	[+16,156; +24,286]
Moscatel Graúdo	Pegões	20 clones	+14,546	[+10,597; +18,494]
		30 clones	+12,313	[+9,089; +15,537]
		40 clones	+10,419	[+7,627; +13,211]
	Palmela	20 clones	+27,488	[+21,955; +33,020]
		30 clones	+24,485	[+19,973; +28,997]
		40 clones	+22,103	[+18,199; +26,008]
Tinta Barroca	Reguengos	20 clones	+24,024	[+15,644; +32,403]
		30 clones	+21,322	[+12,942; +29,702]
		40 clones	+19,248	[+10,868; +27,627]
	Vilariça	20 clones	+15,405	[+9,307; +21,503]
		30 clones	+10,976	[+5,997; +15,955]
		40 clones	+7,653	[+3,341; +11,965]
Tinta Caiada	Pegões	20 clones	+38,302	[+33,112; +43,491]
		30 clones	+34,652	[+30,415; +38,889]
		40 clones	+31,621	[+27,951; +35,290]
	Reguengos	20 clones	+40,656	[+33,894; +47,418]
		30 clones	+36,281	[+30,759; +41,802]
		40 clones	+33,476	[+28,695; +38,258]

R (%), ganho genético previsto, em percentagem da média da população, ao selecionar o grupo de clones superiores em rendimento e respetivo intervalo de predição a 95% de confiança.

Por último, fez-se um outro estudo metodológico com o objetivo de avaliar as discrepâncias entre os ganhos genéticos previstos no momento da seleção policlonal, realizada no primeiro ensaio de seleção instalado para esse fim, e os ganhos observados obtidos nas próprias vinhas plantadas com esse material, isto é, um outro ensaio contendo os mesmos genótipos do primeiro. Os resultados referentes a este estudo encontram-se no Quadro 4.

Quadro 4 - Intervalo de predição a 99% de confiança para o ganho genético previsto, em percentagem da média população, ao selecionar um grupo de 10 clones superiores em rendimento num dos ensaios e o respetivo ganho observado, em percentagem da média, no outro ensaio

Casta	Nº clones comuns nos dois ensaios	Intervalo de predição a 99% para o ganho genético previsto (%)	Ganho observado (%)
Arinto	68	Em Setúbal, [+10,8%; +26,6%]	Em Pegões, +12,9%
Bastardo	253	Em Pegões, [+11,8%; +28,3%]	Em Alijó, +25,0%
Encruzado	179	Em Alijó, [+10,5%, 26,0%]	Em Nelas, +18,7%
Grenache	125	Em Pegões, [+12,0%; +28,2%]	Em Tomelloso, +12,0%
Moscatel Graúdo	98	Em Pegões, [+4,8 %; +19,5%]	Em Palmela, +4,4%

Para esta análise foram consideradas as 5 castas avaliadas em 2 locais que apresentaram o maior número de anos avaliados num determinado ensaio: para a casta Arinto, o intervalo de predição do ganho genético foi construído com base nos dados de rendimento do ensaio de Setúbal e o ganho observado foi calculado no ensaio de Pegões; para a casta Bastardo, o intervalo de predição do ganho foi construído com base nos dados de rendimento do ensaio de Pegões e o ganho observado foi calculado no ensaio de Alijó; na casta Encruzado, o intervalo de predição do ganho foi construído com base nos dados de rendimento do ensaio de Alijó e o ganho observado foi calculado no ensaio de Nelas; no Grenache, o intervalo de predição do ganho foi construído com base nos dados de rendimento do ensaio de Pegões e o ganho observado foi calculado no ensaio de Tomelloso (Espanha); no Moscatel Graúdo, o intervalo de predição do ganho foi construído com base nos dados de rendimento do ensaio de Pegões e o ganho observado foi calculado no ensaio de Palmela.

Os resultados (Quadro 4), demonstraram a grande vantagem da seleção policlonal: seleção com uma previsão precisa dos ganhos genéticos a obter nas novas plantações com esse material selecionado. De facto, em todas as castas estudadas, os ganhos observados estão incluídos na gama de valores prevista nos intervalos de predição a 99% de confiança. Apenas a casta Moscatel Graúdo, que apresentou heritabilidade moderada em Pegões, revelou um pequeno desvio do ganho observado face ao previsto no intervalo de predição, mas sem consequências práticas. De forma interessante, também se observa que a previsão de ganho genético do material policlonal feita num ensaio em Portugal (Pegões) consegue

refletir-se num ensaio em Espanha, onde o ganho observado ainda se encontra na gama de valores prevista.

A existência de interações entre o genótipo e o ambiente fazem com que o comportamento de cada genótipo dependa da resposta específica ao meio em que se desenvolve. Assim, o comportamento de cada genótipo será inconstante, apresentando diferentes posições quer de ambiente para ambiente, quer na ordenação com outros clones. Consequentemente, a seleção de um só genótipo num ambiente determinado, implicará sempre o risco de este se comportar de forma distinta do previsto (Brown et al., 2014). De facto, este constitui o grande problema da seleção clássica da videira (seleção clonal) (Martins & Gonçalves, 2015). Pelo contrário, a seleção policlonal consegue um maior controlo da interação genótipo \times ambiente face à seleção clonal. Este trabalho reforça mais uma vez a vantagem do material policlonal face a este fenómeno: o grupo de 10 clones selecionados conseguiu manter a estabilidade de comportamento, observando-se num local os ganhos que foram previstos noutra local.

Em suma, os resultados deste trabalho demonstram que é possível obter elevados ganhos genéticos de rendimento em castas antigas de videira. Estes resultados reforçam os obtidos em trabalhos prévios acerca de ganhos genéticos, nomeadamente por Mestre (1996), em que 32 castas estudadas apresentaram ganhos previstos superiores a 10%, e mais de metade destas ultrapassaram ganhos de 20%, e por Martins & Gonçalves (2015) e Gonçalves & Martins (2019), onde foram referidos ganhos genéticos de rendimento para várias castas autóctones de +16,7 a +58,4%. De salientar ainda que os resultados deste trabalho demonstram também que é possível prever ganhos genéticos de rendimento com precisão, como comprovado pelos intervalos de predição construídos e pelos estudos metodológicos efetuados em castas com ensaios em dois locais.

5. Conclusões

Os resultados obtidos com este trabalho metodológico constituem mais um contributo para a demonstração das vantagens da seleção policlonal.

Para todas as castas estudadas, foi detetada variabilidade genética intravarietal do rendimento, possibilitando a obtenção de elevados ganhos genéticos para essa característica, previstos com precisão, e sendo em 50% dos casos estudados superiores a 20%.

Relativamente à comparação dos ganhos genéticos a obter com a seleção policlonal quando realizada em dois ensaios distintos, demonstrou-se a importância da qualidade do ensaio, traduzida pelo maior valor de heritabilidade em sentido lato e pelo maior número de anos de avaliação de uma característica, no sucesso da realização da seleção.

Com este estudo foi também possível validar os ganhos genéticos de seleção previstos quando comparados com os ganhos observados em ensaios de campo plantados com os materiais selecionados. De facto, em todas as castas estudadas, os ganhos observados encontram-se incluídos na gama de valores prevista para os ganhos genéticos.

6. Referências bibliográficas

- Badu-Apraku, B., Fakorede, M. A. B., & Oyekunle, M. (2014). Agronomic traits associated with genetic gains in maize yield during three breeding eras in West Africa. *Maydica*, 59(1), 49–57.
- Brown, J., Caligari, P., & Campos, H. (2014). *Plant Breeding* (2nd Editio). Wiley Blackwell.
- Cobb, J. N., Juma, R. U., Biswas, P. S., Arbelaez, J. D., Rutkoski, J., Atlin, G., Hagen, T., Quinn, M., & Ng, E. H. (2019). Enhancing the rate of genetic gain in public-sector plant breeding programs: lessons from the breeder's equation. *Theoretical and Applied Genetics*, 132(3), 627–645. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03317-0>
- Falconer, D. S., & Mackay, T. F. C. (1989). *Introduction to Quantitative Genetics* (p. 433). Pearson.
- Gonçalves, E. (2008). *Modelos estatísticos espaciais para ensaios de populações vegetais. Dissertação de doutoramento em Matemática e Estatística*. Universidade Técnica de Lisboa (UTL), Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.
- Gonçalves, E., Carrasquinho, I., Aubyn, A. S., & Martins, A. (2013a). Broad-sense heritability in mixed models for grapevine initial selection trials. *Euphytica*, 189(3), 379–391. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0787-9>
- Gonçalves, E., Graça, A., & Martins, A. (2019). Grapevine clonal selection in Portugal : A different approach. *BIO Web of Conferences*, 12(EDP Sciences), 01003.
- Gonçalves, E., Magalhães, N., Carneiro, L., & Martins, A. (2013b). Comparison of genetic gains of mass and clonal selection of grapevine. *Proceedings of the 18th International Symposium of the Group of International Experts of Vitivinicultural Systems for Cooperation (GIESCO); 7–11 July 2013; Porto, Portugal (Ciência e Técnica Vitivinícola: Dois Portos, Portugal)*, 794–799.
- Gonçalves, E., & Martins, A. (2012). Genetic Variability Evaluation and Selection in Ancient Grapevine Varieties. *Plant Breed*, 15, 333–352.
- Gonçalves, E., & Martins, A. (2019). Genetic gains of selection in ancient grapevine cultivars. *Acta Hortic.*, 1248, 47–54. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2019.1248.7>
- Gonçalves, E., & Martins, A. (2020). Conservação e utilização da diversidade intravarietal da videira: situação atual e perspetivas futuras. *Revista Da Associação Portuguesa de Horticultura*, nº 139, 24–27.
- Gonçalves, E., & Martins, A. (2022a). Efficient Assessment and Large-Scale Conservation of Intra-Varietal Diversity of Ancient Grapevine Varieties: Case Study Portugal. *Plants*, 11(15), 1917. <https://doi.org/10.3390/plants11151917>

-
- Gonçalves, E., & Martins, A. (2022b). Optimizing conservation and evaluation of intravarietal grapevine diversity. In C. Costa, J.M., Catarino, S., Escalona, J.M. (Ed.), *Sustainable Viticulture and Winemaking Practices* (pp. 45–64). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85150-3.00020-7>
- Henderson, C. (1975). Best linear unbiased estimation and prediction under a selection model. *Biometrics*, 31, 423–447.
- International Organisation of Vine and Wine. (2019). *Resolution OIV-VITI 564B-2019. Process for the recovery and conservation of the intravarietal diversity and the polyclonal selection of the vine in grape varieties with wide genetic variability*. July, 1–17.
- Leão, P., & Borges, R. (2009). Melhoramento Genético da Videira. *Embrapa Semiárido. Série Documentos*, 224, 61. <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/17927/1/SDC224.pdf>
- Martins, A., Carneiro, L. C., & Castro, R. (1990). Progress in mass and clonal selection of grapevine varieties in Portugal. *Vitis (Special Issue)*, 485–489.
- Martins, A., Carneiro, L., & Castro, R. (1987). Progress in mass and clonal selection of grapevine varieties in Portugal. *Vitis - Journal of Grapevine Research*, 29, 485–489.
- Martins, A., & Gonçalves, E. (2015). 8 - Grapevine breeding programmes in Portugal. In *Grapevine Breeding Programs for the Wine Industry*. Woodhead Publishing. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-075-0.00008-9>
- McCulloch, C. E. (1996). An Introduction To Generalized Linear Mixed Models. *Conference on Applied Statistics in Agriculture*. <https://doi.org/10.4148/2475-7772.1314>
- Mestre, S. G. (1996). *Seleção de clones de videira: ganhos genéticos e estabilidade ambiental do rendimento* [Dissertação de Mestrado]. Instituto Superior de Agronomia - Universidade Técnica de Lisboa.
- Patterson, H. D., & Thompson, R. (1971). Recovery of inter-block information when block sizes are unequal. *Biometrika*, 58, 545–554.
- Regina, M. de A. (2004). Análise comparativa da organização e metodologia da seleção clonal da videira na França e Brasil. *Ciência e Agrotecnologia*, 28(1). <https://doi.org/10.1590/s1413-70542004000100028>
- Searle, S., Casella, G., & McCulloch, C. (1992). *Variance components*. John Wiley: Hoboken.
- Surgy, S. (2018). *Seleção para grupos de características em variedades antigas de videira* [Dissertação de Mestrado]. Instituto Superior de Agronomia - Universidade de Lisboa.