

El peso de la inflorescencia como criterio de selección para aumentar la producción de semilla en alfalfa

The inflorescence weight as selection criteria for increasing seed production in alfalfa

Eduardo Daniel Bolanos Aguilar^a, Christian Huyghe^b, Bernadette Julier^b

RESUMEN

Este documento resume estudios realizados en variabilidad y control genético, así como efectos ambientales sobre la producción de semilla en alfalfa, y propone un criterio y un esquema de selección para aumentar esta producción. La producción de semilla y sus componentes presentan alta variabilidad genética inter e intra-varietal. Las mayores heredabilidades, en el sentido estricto, están en la producción de semilla por planta (0.52), peso de semillas por inflorescencia (0.56) y número de semillas por vaina (0.56), siendo la varianza aditiva la principal fuente de variación genética. Existe la interacción genotipo x medio para la producción de semilla; por el contrario, el peso de semillas por inflorescencia presenta estabilidad al medio y está correlacionado genéticamente con la producción de semilla (0.92, $P < 0.001$). Además, los valores observados en este componente en plantas espaciadas están correlacionados (0.84 y 0.65 para los años 1997 y 1998, $P < 0.001$) con los observados en cobertura densa. El incremento del potencial de producción de semilla en alfalfa, podría ser alcanzado utilizando al peso de semillas por inflorescencia como criterio de selección. Efectivamente, este componente presenta estabilidad al medio, variabilidad genética, alta heredabilidad y es de fácil empleo. En base a lo anterior, el esquema de selección propuesto valoriza la aptitud combinatoria general de las plantas parentales, dentro de un dispositivo combinado individuo-familia, y al peso total de la inflorescencia como criterio de selección, por estar la variación de este último componente explicado en un 70 % por la variación del peso de semillas por inflorescencia.

PALABRAS CLAVE: *Medicago sativa* L., Producción de semilla, Variabilidad genética, Habilidad combinatoria, Heredabilidad.

ABSTRACT

This paper summarize the works realized in variability and genetic control, and also environmental effects on the alfalfa seed production, and it propose a selection criterion, and a breeding scheme for improving seed production in this forage. The seed production and its components showed a large genetic variation among and within-varieties. The larger narrow-sense heritability were found for seed production per plant (0.52), seed weight per inflorescence (0.56) and seed number per pod (0.56), while the additive variance contributed most of the genetic variance of these components. The genotype x environment interaction for seed production was found. In contrast, the seed weight per inflorescence showed higher stability to environment and the correlation between this trait and seed production was high at the genetic level (0.91, $P < 0.001$). In the other hand, the relationship between the value observed for seed weight per inflorescence in dense canopies and under spaced plant design are correlated (0.84 and 0.65 from 1997 and 1998, $P < 0.001$). Increase in seed yield potential in alfalfa could be achieved by the use of seed weight per inflorescence as a selection criterion. Effectively, this trait showed stability over environments, genetic variability, high narrow-sense heritability, high genetic correlation with seed production, and it easy to employ. On the basis of these results, the selection schema proposed valorize the General Combining Ability from parents plants, in a combining individual-family design, and the total inflorescence weight as selection criterion, because the variation of this later trait is explicated per 70 % of the seed weight per inflorescence variations.

KEY WORDS: *Medicago sativa* L., Seed production traits, Genetic variability, Combining ability, Heritability.

Recibido el 13 de noviembre de 2003 y aceptado para su publicación el 29 de febrero de 2004.

a Campo Experimental Huimanguillo, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) 86400 Huimanguillo, Tabasco, México. bolanosaguilar@yahoo.com. Correspondencia al primer autor.

b INRA, Unidad de Genética y Mejoramiento de Plantas Forrajeras, 86600 Lusignan, Francia.

INTRODUCCIÓN

La producción de semilla es un factor clave para la comercialización de nuevas variedades. México es un gran importador de semilla de alfalfa; por ejemplo, en 1997 adquirió 3,100 t, cuando el resto de los países importadores de esta semilla introdujeron en promedio 1,000 t⁽¹⁾.

Existen dos vías principales para aumentar la producción de semilla: el mejoramiento de las prácticas agronómicas, y mediante el mejoramiento genético⁽²⁾. En los últimos 20 años, el mejoramiento de las prácticas agronómicas ha sido el factor principal del progreso en la producción mundial de semillas de alfalfa, pasando de 200 a más de 500 kg/ha⁽³⁾. Por el contrario los logros obtenidos con el mejoramiento genético han sido limitados, debido, en parte, a que la producción de semilla no ha sido un parámetro considerado en las primeras etapas de selección de los programas de mejoramiento genético, dada, en parte, la inexistencia de un criterio de selección de fácil uso en grandes dispositivos de plantas espaciadas.

Entre los principales criterios de selección sugeridos a la fecha, se tienen: el número de óvulos por ovario, la fertilidad del polen^(4,5,6,7), flores de fácil polinización por los insectos^(8,9), el número de semillas por vaina^(4,10,11), el número de semillas por inflorescencias por planta^(11,12) y el peso de la inflorescencia⁽¹³⁾.

INTRODUCTION

Seed production is a key factor in marketing of new alfalfa varieties. Mexico is a heavy alfalfa seed importer. For example, in 1997, Mexico imported 3,100 t of seed while other importing countries bought an average of 1,000 t⁽¹⁾.

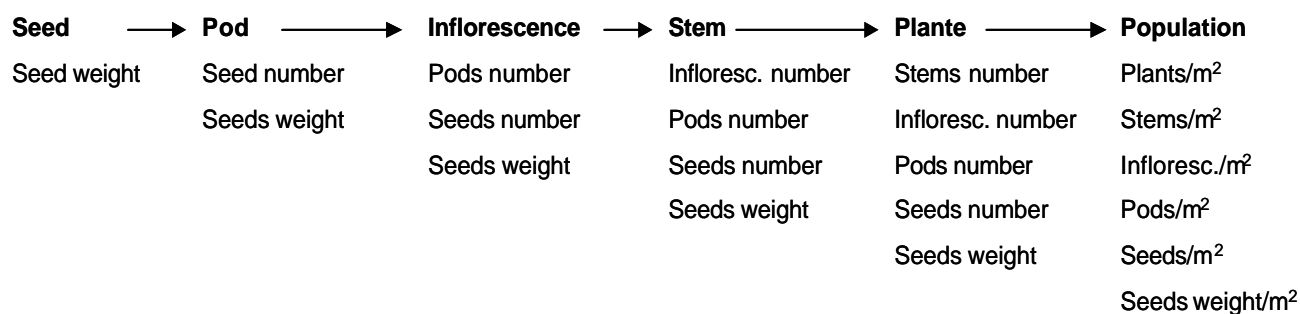
There are two main ways of increasing seed production, by improving agronomic practices and by improving genetics⁽²⁾. Over the last 20 years improvements in agronomic practices have been the main factor promoting progress in worldwide alfalfa seed production, increasing it from 200 to over 500 kg/ha⁽³⁾. In contrast, advances in genetic improvement have been limited. This is partially due to the fact that seed production has not been used as a factor in the first stages of alfalfa genetic improvement programs, because there is no easy-to-use criteria for large spaced plant situations.

Among the main criteria suggested to date are: ovule number per ovary, pollen fertility^(4,5,6,7), easily insect-pollinated flowers^(8,9), seed number per pod^(4,10,11), seed number per plant inflorescence^(11,12), and inflorescence weight⁽¹³⁾. Of these, the inflorescence level components are easier to use in large spaced plant designs.

Seed production, however, is the result of different components that can be classified into organization levels: plant, stem, inflorescence, pod, and grain (Figure 1).

Figura 1. Componentes de la producción de semillas de los diferentes niveles de organización en poblaciones de alfalfa

Figure 1. Seed production components of the different organization levels from alfalfa populations



De estos componentes, los ubicados a nivel de la inflorescencia resultan ser más fáciles de utilizar en grandes dispositivos de plantas espaciadas, pero debe tomarse en cuenta que la producción de semilla es el resultado de diferentes componentes, que se pueden clasificar en niveles de organización: planta, tallo, inflorescencia, vaina y grano (Figura 1).

Estos componentes son susceptibles de presentar correlaciones fuertes o débiles con la producción de semilla, así como correlaciones entre ellas, que dan origen a fenómenos de compensación entre componentes de los diferentes niveles de organización, o entre componentes de un mismo nivel. El presente trabajo tiene el objetivo de realizar una revisión bibliográfica de la variabilidad, control genético y estabilidad al medio de la producción de semilla y sus componentes en alfalfa; proponer un criterio de selección, de fácil uso, y un esquema de selección para aumentar la producción de semilla, además de dar algunas perspectivas sobre la investigación futura en este aspecto.

Variabilidad genética

Todo programa de mejoramiento genético inicia con la evaluación de la variabilidad genética disponible del componente de interés, en este caso, la producción de semilla. Esta evaluación puede realizarse entre genotipos de una variedad, entre variedades o entre ecotipos. Mediciones hechas sobre 1,301 plantas individuales de alfalfa mostraron una importante variabilidad genética para la producción de semilla, con valores que fueron de 0 a 44 g de semilla por planta⁽¹⁴⁾. Dada la estructura genética de las variedades sintéticas y a la polinización cruzada, la alfalfa presenta una variabilidad intra-varietal superior a la inter-varietal; se han observado variaciones de 9.37 a 18.32 g de semilla por planta entre variedades y de 0.30 a 30.75 g al interior de las variedades, representando la varianza intra-varietal el 89 % de la varianza genética total⁽¹⁵⁾. Esta importante variabilidad intra-varietal ha sido también reportada para la calidad, con 31 al 70 % y para la morfología con 57 al 100 % de la varianza

These tend to have strong and weak correlations to seed production, as well as correlations between themselves, that lead to compensation phenomena between the components of different organizational levels, or the same level. The present study is a bibliographic review of variability, genetic control and stability in seed production and its components in alfalfa done to propose an easy-to-use selection criterion and a selection scheme to increase seed production, and provide a perspective on future research.

Genetic variability

All genetic improvement programs begin with an evaluation of the genetic variability available from the component of interest, in this case seed production. This evaluation can be done between genotypes of a variety, between varieties or between ecotypes. Measurements of 1,301 individual alfalfa plants showed significant genetic variability in seed production, with values from 0 to 44 g of seed per plant⁽¹⁴⁾. Given the genetic structure of synthetic and cross-pollinated varieties, alfalfa's intravarietal variation is greater than its intervarietal variation. Intervarietal variations have been reported ranging from 9.37 to 18.32 g of seed per plant and intravarietal variations from 0.30 to 30.75 g, the latter representing 89 % of total genetic variability⁽¹⁵⁾. Significant intravarietal variation has also been reported for the quality component, with from 31 to 70 % of total genetic variation, and for morphology, with 57 to 100%⁽¹⁶⁾. Intravarietal variation can originate in differences between male and female fertility⁽¹⁷⁾, or in differences in lower resistance to pollination⁽⁹⁾. Significant intravarietal genetic variation in alfalfa has been reported for many years⁽¹⁸⁾.

Study of genetic variability addressing seed production and its components is based on the different organizational levels (Figure 1). The most important components are those that are highly correlated to seed production per plant or area unit. Bibliographic review clearly relates seed production to its components⁽¹⁹⁾, and demonstrates the variation between correlations; the present review includes results on variations linked to genetic, environmental and cultural practice sources (Table 1).

Cuadro 1. Correlaciones fenotípicas entre la producción de semillas y algunos de sus componentes en alfalfa

Table 1. Phenotypic correlations between seed production and its components in alfalfa

References	Seed weight / inflorescence	Inflorescence number / stem	Pod number / inflorescence	Seed number/ pod	Seed weight
Dann and Waldron, 1933		0.54*	0.68**	0.57**	
Pedersen and Nye, 1962			S	S	-S
Hurst and Pedersen, 1964		0.13	0.10	0.48**	-0.10
Rausch, 1964				S	
Demarly and Chesneaux, 1966				0.62	-0.18
Dobrenze and Massengale, 1966			S	S	
Dovrat <i>et al.</i> , 1969		S	S		
Rumbaugh <i>et al.</i> , 1971		S		0.52**	0.06
Zambrana, 1972		S	NS	NS	
Steuckardt, 1973		S		0.65**	
Kowithayakorn and Hill, 1982				NS	
Zharinov, 1986				S	
Taylor and Marble, 1986		0.84*		0.77**	
Boçsa and Buglos, 1983				0.58**	
Askarian <i>et al.</i> , 1995				NS	
Bolaños-Aguilar <i>et al.</i> , 2002	0.40**			0.39**	0.10

(Modified from Hacquet, 1990)⁽¹⁹⁾

S=non disponibility values; NS=non significant.

* ($P < 0.05$); ** ($P < 0.01$).

genética total⁽¹⁶⁾. La variabilidad intra-varietal puede tener también sus orígenes en las diferencias en fertilidad masculina y femenina⁽¹⁷⁾, o en las diferencias en resistencia de las flores para ser polinizadas⁽⁹⁾. Desde muchos años atrás se ha reportado una importante variabilidad genética intra-varietal en alfalfa⁽¹⁸⁾.

Con base en los diferentes niveles de organización (Figura 1), el estudio de la variabilidad genética concierne, a la vez, a la producción de semilla y a sus componentes. Los componentes de mayor importancia son aquéllos que están altamente correlacionados con la producción de semilla por planta o por unidad de área. Una revisión bibliográfica pone en relación a la producción de semilla con sus componentes⁽¹⁹⁾, y muestra la variación de las correlaciones; en el Cuadro 1 se presentan resultados sobre variaciones de origen genético, ambiental y ligados a prácticas culturales.

The most studied component is seed number per pod, which has a significant relationship to seed production in most cases. However, some results were obtained with spaced plants without validation in dense cover plants, the method used for commercial seed exploitation.

Very few studies have evaluated genetic variability in seed number per pod, and reported results are contradictory. Some studies report a variation of 2.5 to 3.3 seeds per pod⁽¹⁰⁾, while others report a variation of 2 to 9 seeds⁽⁴⁾. A possible reason for these differences is that ovule fertility varied widely between the plants in the different studies. In effect, seed number per pod depends on the fertile ovule number per ovary and not on ovule number per ovary, as is usually assumed^(4,14,20,21). Thus, there is a strong correlation (0.83, $P < 0.01$) between female fertility (i.e. fertile ovule number / total ovule number) and fertile ovule number per ovary⁽⁷⁾.

Se observa que el componente más estudiado es el número de semillas por vaina, el cual tiene, en la mayoría de los casos, una importante correlación con la producción de semilla; sin embargo, algunos de estos resultados fueron obtenidos de plantas espaciadas, sin validarse en plantas en cobertura densa, práctica utilizada para la explotación comercial de semillas.

Son pocos los trabajos que han evaluado la variabilidad genética del número de semillas por vaina, y los resultados son contradictorios; mientras que existen trabajos que reportan una variación de 2.5 a 3.3 semillas por vaina⁽¹⁰⁾, otros indican una variación de 2 a 9 semillas⁽⁴⁾. Una posible causa de estas diferencias pudiera ser que la fertilidad del óvulo fue muy variable entre las plantas utilizadas en los diferentes estudios, pues efectivamente, se ha observado que el número de semillas por vaina depende del número de óvulos fértiles por ovario y no del número de óvulos por ovario, como normalmente se piensa^(4,14,20,21), así, se ha observado que existe una fuerte correlación (0.83, $P < 0.01$) entre la fertilidad femenina (número de óvulos fértiles / número total de óvulos) y el número de óvulos fértiles por ovario⁽⁷⁾.

El Cuadro 1 muestra también que los estudios realizados a nivel de la inflorescencia misma han sido menos frecuentes; sin embargo, el peso de semillas por inflorescencia ha mostrado una importante correlación genética (0.92, $P < 0.001$) con la producción de semilla⁽²²⁾. Además, se ha observado una importante variabilidad genética inter e intra-varietal para este componente, que va de 61 a 93 mg y de 20 a 140 mg, respectivamente⁽¹⁵⁾. Este último estudio indica que la variación genética para el peso de semillas por inflorescencia puede ser producida a partir de dos fuentes: del número de vainas por inflorescencia y del peso de la semillas por vaina, dada la correlación genética que existe entre estos dos componentes y el peso de semillas por inflorescencia de 0.81 y 0.84, respectivamente.

Control genético

No sólo es importante conocer los componentes que presentan una alta variabilidad genética y que están relacionados con la producción de semilla, sino también es necesario saber si estos componentes

Inflorescence studies have also been infrequent (Table 1), though seed weight per inflorescence has exhibited a significant genetic correlation (0.92, $P < 0.001$) to seed production⁽²²⁾. Significant intra- and intervarietal variation has also been observed for these components (61 to 93 mg; and 20 to 140 mg, respectively)⁽¹⁵⁾. This last study indicates that genetic variation in seed weight per inflorescence can come from two sources, pod number per inflorescence and seed weight per pod, given the genetic correlation between these two components and seed weight per inflorescence (0.81 and 0.84, respectively).

Genetic control

Knowing what components have high genetic variability and are related to seed production is important, but so understands if these same components are inheritable. The literature indicates that evaluation has been done of genetic control in pod set⁽²³⁾, ovule number per ovary⁽⁴⁾, pollen fertility, flower ease of pollination, self-incompatibility^(4,24), average seed weight, seed weight per inflorescence, seed number per pod, pod number per inflorescence, seed number per inflorescence, inflorescence number per plant and seed number per plant^(25,26,27). Among these components, the inflorescence is the easiest to measure in large designs. Also, additive variance has been reported as the main contributor to genetic variance for seed production and its components^(4,27,28). This wide additive variance leads to a high narrow-sense inheritability estimation, mainly for seed production per plant (0.52), seed weight per inflorescence (0.56) and seed number per pod (0.56)⁽²⁷⁾. Therefore, an effective seed production selection can be used as a genetic improvement method, such as the polycross system, designed to exploit additive genetic variation (i.e. general combining ability - GCA). For both variability and genetic control of seed production and its components, results indicate that seed weight per inflorescence is an important selection criterion. These results, however, are mostly from spaced plants given that genetic improvement of alfalfa is mainly aimed at improving the pasture and not the plant itself. This is because a component correlated to seed production within a spaced plants design

son heredables. La literatura indica que el control genético ha sido evaluado sobre el amarre del fruto⁽²³⁾, número de óvulos por ovario⁽⁴⁾, fertilidad del polen, facilidad de las flores a la polinización, autoincompatibilidad^(4,24), peso promedio de una semilla, peso de semillas por inflorescencia, número de semillas por vaina, número de vainas por inflorescencia, número de semillas por inflorescencia, número de inflorescencias por planta y número de semillas por planta^(25,26,27). Entre todos estos componentes, la inflorescencia misma es el componente más fácil de medir en grandes dispositivos, y se ha observado que la varianza aditiva es el principal contribuidor de la varianza genética para la producción de semilla y sus componentes^(4,27,28). Esta gran varianza aditiva da como resultado una alta estimación de la heredabilidad en el sentido estricto, principalmente para la producción de semilla por planta, el peso de semillas por inflorescencia y para el número de semillas por vaina, con valores de 0.52, 0.56 y 0.56, respectivamente⁽²⁷⁾. Entonces, una selección efectiva para la producción de semilla puede ser utilizando un método de mejoramiento genético, diseñado para explotar la variación genética aditiva, *i.e.*, la aptitud combinatoria general, como lo es el sistema de policruzas. Estos resultados, tanto de la variabilidad como del control genético de la producción de semilla y sus componentes, indican que el peso de semillas por inflorescencia es un importante criterio de selección; sin embargo, estos resultados han sido principalmente obtenidos en plantas espaciadas, en tanto que el objetivo del mejoramiento genético en alfalfa es el de mejorar la pradera y no la planta en sí misma. Lo anterior es porque un componente correlacionado con la producción de semilla dentro de un dispositivo de plantas espaciadas, posiblemente no lo seguirá estando dentro de una población densa, a causa de una posible interacción planta-planta.

En pruebas de progenie se observa que la densidad de planta y la estructura de la pradera afectan los parámetros genéticos de la floración y la producción de materia seca^(29,30), de ahí la importancia de trabajar con criterios de selección que sean poco afectados por la interacción planta-planta en una pradera. La estabilidad del genotipo a medios diferentes

may not remain so in a dense population due to possible plant-plant interaction.

In progeny tests, plant density and pasture structure have been reported as affecting flowering and dry matter production genetic parameters^(29,30), demonstrating the importance of working with selection criteria that are minimally affected by plant-plant interaction within a pasture. Genotype stability in different mediums is essential in selection, mainly for synthetic varieties.

Effect of the environment

Environmental factors frequently have more significant effects on seed yield than genetic components^(31,32), though the biggest problem occurs when a genotype/environment interaction exists⁽³⁵⁾. In these cases, the behavior of both the genotype and the environment are difficult to predict⁽³⁴⁾, and thus data is needed on the variations caused by the effect of the cultivar and the environment on seed production and its components in dense canopies. The genotype x environment interaction has also been shown to be significant in seed production per plant and per area unit^(15,22,35).

Forming part of the environmental factor, cultural practices can significantly modify plant response. For example, seed production has been shown to be affected by the number of pre-seed production harvests for forage production due to variation in the number of stems with flowers per plant and pod number per florescence⁽³⁶⁾. Similar effects have been reported as a consequence of different inter-row spacings^(37,38).

In low water availability conditions, frequent irrigation has been shown to be beneficial to seed production as it increases pod number per inflorescence^(37,39), likely as a result of increased biomass production. In fact, inter-environment variations in seed production are related to variation in available biomass production at time of seed harvest, with a correlation to the environment of up to 0.94, $P < 0.001$ ^(1,22). However, very high irrigation levels lead to excessive vegetation growth, to the detriment of seed production⁽⁴⁰⁾. This decrease in seed production may be due to bending

es importante en la selección, principalmente para las variedades sintéticas.

Efecto del medio

Con frecuencia, los factores ambientales tienen efectos más importantes que los genéticos, sobre los componentes del rendimiento de semilla^(31,32); sin embargo, el problema mayor es cuando existe la interacción entre el genotipo y el medio⁽³⁵⁾. En este caso es difícil de predecir el comportamiento de un genotipo, y paralelamente es difícil de predecir el comportamiento de un medio o sitio⁽³⁴⁾, por ello, es necesario conocer las variaciones causadas por los efectos del cultivar y del medio para la producción de semilla y sus componentes, en coberturas densas; al respecto, la interacción genotipo x medio ha mostrado ser significativa para la producción de semilla por planta y por unidad de área^(15,22,35).

Las prácticas culturales son un factor ambiental que modifican de manera significativa la respuesta de la planta. Se ha demostrado que la producción de semilla es afectada por el número de cortes para la producción de forraje, previos a la producción de semilla, como resultado de la variación en el número de tallos con flores por planta y número de vainas por inflorescencia⁽³⁶⁾; efectos similares han sido mencionados como una consecuencia de diferentes espaciamientos entre líneas^(37,38).

En condiciones de poca disponibilidad de agua, se ha mostrado que las irrigaciones frecuentes son benéficas para la producción de semilla, debido al aumento del número de vainas por inflorescencia^(37,39), resultado probablemente de un incremento en la producción de biomasa. Efectivamente, se ha observado que la variación en la producción de semilla entre medios diferentes, está relacionada con la variación en la producción de biomasa disponible al momento de la cosecha de la semilla, con una correlación ambiental de hasta 0.94, $P < 0.001$ ^(1,22). Sin embargo, un alto suministro de agua produce un excesivo crecimiento vegetativo en detrimento de la producción de semilla⁽⁴⁰⁾. Esta disminución en la producción de semilla puede deberse al acame, como resultado del excesivo crecimiento

resulting from excessive plant growth, since it has been observed that bending has a negative correlation to seed production, with values as high as -0.89 , $P < 0.001$ ^(22,35). This decrease in seed production in bent plants is partially due to a significant decrease in soluble sugars during flowering in bent stems, versus unbent stems, which limits availability of this input for seed development⁽⁴¹⁾.

Among seed production components, a positive correlation has been reported between seed production and seed number per pod under 46 experimental conditions⁽¹⁹⁾. Other studies, in contrast, report that seed number per pod is not an important component in yield when the main variation source is plant density⁽³⁸⁾. A reduction in seed number per pod (4.5 to 4.1 seeds) has been reported when the plant is defoliated at the time of flowering⁽⁴²⁾. In another study done over 12 years on 12 cultivars at four sites, it was observed that the main sources of genetic variation in seed production were the harvest index (0.99, $P < 0.001$) and seed weight per inflorescence (0.92, $P < .001$)⁽²²⁾. The latter was also genetically correlated to the harvest index and had a weak interaction between cultivars and environments. It was also observed that variation in seed weight per florescence between environments and cultivars were both related to variation in pod number per inflorescence and seed number per pod.

In a study done in 1997 and 1998⁽²⁷⁾, a significant correlation ($P < 0.001$) was shown between seed weight per inflorescence values in spaced plants (0.84) and in dense canopies (0.65) (Figure 2). This was less significant in 1998 due to the high seed weight per inflorescence values in the dense canopies. Though the reason for this was not identified, it can be used as a design in isolated plants to estimate the behavior of a set of varieties in dense populations when seed weight per inflorescence is used as a selection criterion.

In summary, of the components evaluated with a view to increasing alfalfa seed production, seed weight per inflorescence appears to be a reasonable selection criterion since it exhibits the following

de la planta, ya que se ha observado que el acame presenta una correlación negativa con la producción de semilla con valores de hasta -0.89 , $P < 0.001$ (22,35).

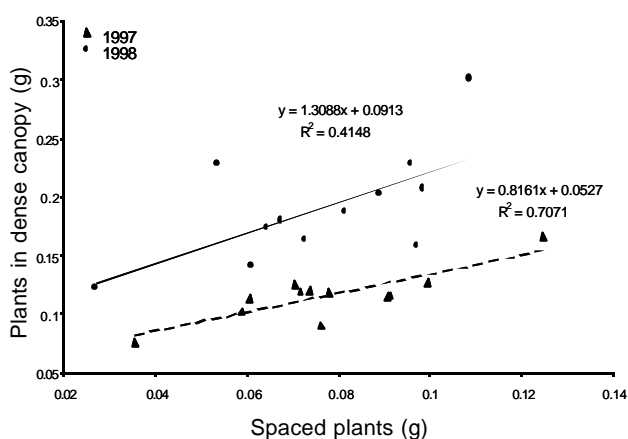
La disminución en la producción de semilla en plantas con acame se debe, en parte, a una disminución significativa de azúcares solubles en los tallos acamados durante la floración, con respecto a los tallos sin acame, lo que limita la disponibilidad de este asimilado para el desarrollo de la semilla(41).

Entre los componentes de la producción de semilla, se ha indicado una correlación positiva entre la producción de semilla y el número de semillas por vaina en 46 condiciones experimentales(19), pero otros estudios han indicado que el número de semillas por vaina no es un componente importante del rendimiento, cuando la principal fuente de variación es la densidad de plantas(38). Por otra parte, también se reporta una reducción del número de semillas por vaina (4.5 a 4.1 semillas) cuando se realiza una defoliación de la planta al momento de la floración(42). En un estudio realizado durante tres años sobre 12 cultivares y cuatro sitios, se determinó que las principales fuentes de variación genética en la producción de semilla fueron el índice de cosecha (0.99 , $P < 0.001$) y el peso de semillas por inflorescencia (0.92 , $P < .001$)(22); este último también estuvo correlacionado genéticamente con el índice de cosecha (0.96 , $P < 0.001$), y presentó una débil interacción entre cultivares y medios. Además se observó que la variación del peso de semillas por inflorescencia entre medios y cultivares estuvieron ambos relacionados con la variación en el número de vainas por inflorescencia, y en el número de semillas por vaina.

Durante 1997 y 1998 se demostró que existe una importante correlación entre los valores del peso de semillas por inflorescencia en plantas espaciadas, con los valores del peso de semillas por inflorescencia en coberturas densas con 0.84 y 0.65 ($P < 0.001$), respectivamente(27) (Figura 2). Esta correlación fue menos importante en 1998 dado a los altos valores obtenidos para el peso de semillas por inflorescencia en la cubierta densa, aunque la

Figura 2. Correlaciones entre el peso de semillas por inflorescencia en plantas espaciadas y el peso de semillas por inflorescencia en plantas en cobertura densa

Figure 2. Correlation between seed weight per inflorescence in spaced plants and seed weight per inflorescence in plants of dense canopy



significant genetic variation; high narrow-sense inheritability; additive variation as the main source of genetic variability; genetic correlation to seed production per plant and unit surface; correlation between values in dense canopies and spaced plants; and it is easily measured in large designs. In addition, the inflorescence can be seen as a biological unit since all the flowers of a given inflorescence open within a relatively short 24-hour period(42). Finally, if the different compensation phenomena recorded between seed production components is considered(43,44,45,46), seed weight per inflorescence can integrate variation sources such as pod number per inflorescence, seed number per pod and mean seed weight, as well as the possible compensations that can be produced between these and the inflorescence.

Selection scheme

Based on the above premise, seed weight per inflorescence is the best criterion to consider in a selection scheme. For practical ends, however, the ratio between seed weight per inflorescence and total inflorescence weight was used (Figure 3). Moreover, variation in total inflorescence weight is 70 % explained by variation in seed weight per

razón no fue identificada; no obstante, se puede utilizar un dispositivo en plantas aisladas para estimar el comportamiento de un conjunto de variedades en poblaciones densas, cuando el peso de semillas por inflorescencia sea utilizado como criterio de selección.

En síntesis, de los componentes evaluados con el objetivo de aumentar la producción de semilla en alfalfa, el peso de las semillas por inflorescencia parece ser un criterio de selección razonable, ya que muestra las características siguientes: débil interacción con el medio, variabilidad genética importante, heredabilidad en el sentido estricto elevado, varianza aditiva como principal fuente de variación genética, genéticamente correlacionado con la producción de semilla por planta y por unidad de superficie, los valores medidos en coberturas densas y en plantas espaciadas están correlacionados, y es fácil de medir en grandes dispositivos. Además, la inflorescencia puede ser considerada como una unidad biológica, ya que todas las flores de una inflorescencia dada, florecen dentro de un período relativamente corto de alrededor de 24 h⁽⁴²⁾. Finalmente, si se consideran los diversos fenómenos de compensación observados entre los componentes de la producción de semillas^(43,44,45,46), el peso de las semillas por inflorescencia puede integrar las fuentes de variación tales como el número de vainas por inflorescencia, el número de semillas por vaina y el peso medio de una semilla, y las posibles compensaciones que puedan producirse entre ellas en una inflorescencia.

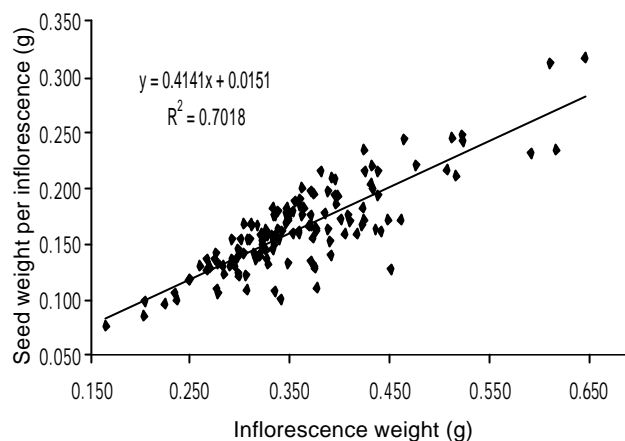
Esquema de selección

Si partimos de la premisa anterior, el peso de semillas por inflorescencia es el criterio a considerar dentro de un esquema de selección; sin embargo, para fines prácticos, se puso en relación al peso de semillas por inflorescencia con el peso total de la inflorescencia (Figura 3). Además, se observó que la variación del peso total de la inflorescencia está explicada en un 70 % por la variación del peso de peso de la inflorescencia misma puede ser considerado como un criterio de selección.

Dado estos resultados, el esquema de selección

Figura 3. Relación entre el peso de la inflorescencia y el peso de semillas por inflorescencia

Figure 3. Relation between inflorescence weight and seed weight per inflorescence



inflorescence⁽¹³⁾, meaning that inflorescence weight can also be used as a selection criterion.

Given these results, the proposed selection scheme evaluates the GCA of the parent plants within a combined individual-family design and using inflorescence weight as the selection criterion (Figure 4). To maximize genetic progress, selection is proposed on both sexes (greater parental control), and, seeing as a weak genotype x environment interaction is reported in the literature for the inflorescence, the selection scheme can be done at a single site.

The selection and variety-creation strategy (Figure 4) is based on a combined individual-family selection that allows a genetic gain greater than that had with just a family or individual selection⁽⁴⁷⁾. In other words, it combines the genetic progress available in inter- and intrafamilial selection.

This scheme begins with phenotypic evaluation of a large number of plants from families in selection from populations and varieties with high agronomic value. This is done on spaced plants that conserve the family structure. In the first year the plants must be tested to determine their aptitude for seed production based on inflorescence weight by plant.

propuesto valora la aptitud combinatoria general de las plantas parentales, dentro de un dispositivo combinado individuo-familia, al utilizar el peso de la inflorescencia como criterio de selección (Figura 4).

Para maximizar el progreso genético, se propone seleccionar sobre los dos sexos (mayor control parental), y al considerar que la literatura indicó una interacción débil genotipo x medio, cuando la inflorescencia es considerada, el esquema de selección podría ser conducido en un solo sitio.

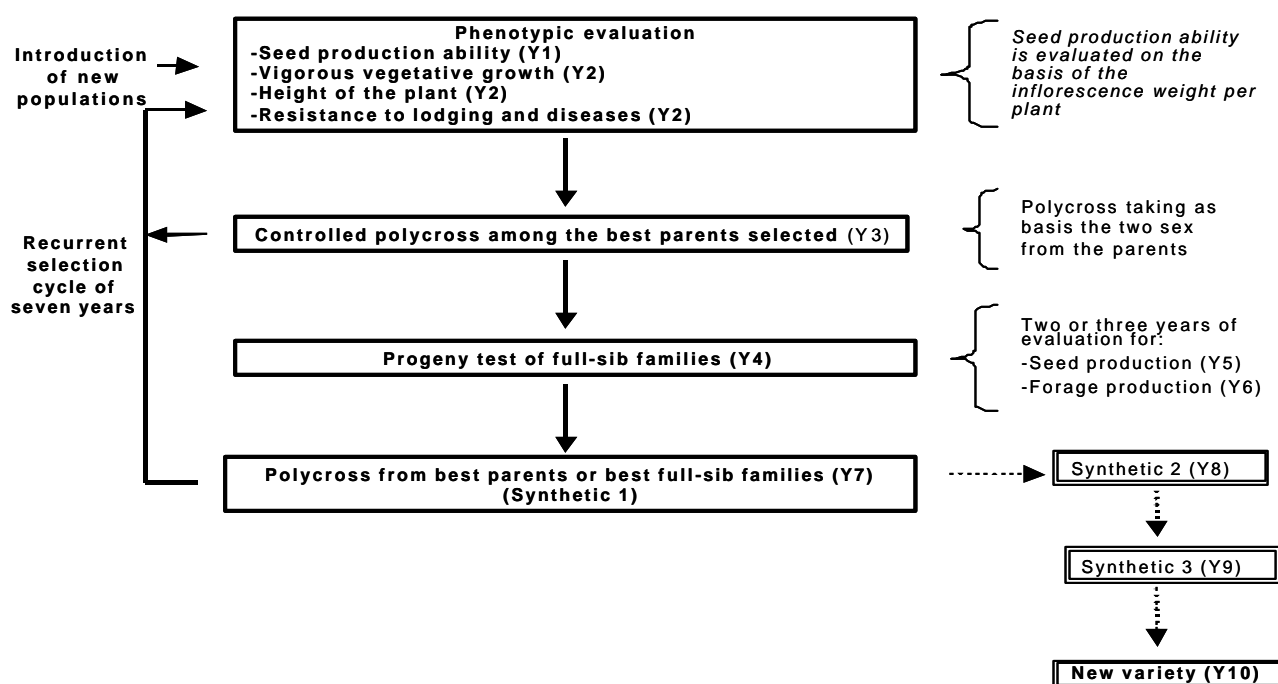
La Figura 4 muestra la estrategia integrada de selección y de creación de variedades basada sobre una selección combinada individuo-familia, que permite una ganancia genética superior a la obtenida con una selección familiar o individuo solo⁽⁴⁷⁾. Ella combina el progreso genético permitido para la selección entre familias y la selección intra-familias.

El punto de partida de este esquema es la evaluación

In the second year, these same plants will be evaluated for height, vigor, and resistance to bending and diseases. Based on these two years of study, a family and individual selection is done by indices. For rapid progress in seed production this component should be given lots of weight, at least during the first evaluation cycle. Certain families will be eliminated based on their mean value. The best individuals from the best families will then be selected and placed in controlled polycrosses, based on the parents' two sexes. This can be done in a greenhouse in the autumn of the second year or in the field in the third year. In the fourth year, the polycross descendents (families of full siblings) will be evaluated in canopies appropriate for seed production (2 kg/ha sowing density) and forage production (10 kg/ha). This evaluation will last for two years (years five and six). Using the descendancy test results, the best parents and their best descendents will be placed in polycrosses. A total of up to 10 polycrosses can be done annually so that in the seventh year synthetic variety 1 will

Figura 4. Esquema de selección para aumentar la producción de semillas en alfalfa

Figure 4. Breeding scheme for increasing seed production in alfalfa



fenotípica de un gran número de plantas producto de familias en selección, de poblaciones y de variedades de buen valor agronómico. Esta evaluación se realiza sobre plantas espaciadas conservando la estructura familiar. En el primer año, las plantas deben ser probadas por su aptitud para producir semilla con base en el peso de la inflorescencia, colectando cinco inflorescencias bien desarrolladas por planta. En el segundo año, estas mismas plantas serán evaluadas en cuanto a su altura, vigor, resistencia al acame o a enfermedades. Sobre la base de estos dos años de estudio se deberá realizar una selección familiar e individual por índices. Para obtener un progreso rápido sobre la producción de semillas, es necesario dar una ponderación importante a este componente, al menos durante el primer ciclo de evaluación. Ciertas familias serán eliminadas sobre la base de su valor medio; dentro de las mejores familias serán seleccionados los mejores individuos los que serán puestos en policruzas controladas, con base en los dos sexos de los padres, lo cual podrá realizarse en invernadero durante el otoño del segundo año, o en campo en el tercer año. En el cuarto año, las descendencias (familias de hermanos completos) de la policruza serán evaluadas en coberturas propias para la producción de semilla (2 kg/ha como densidad de siembra) y en coberturas para la producción de forraje (10 kg/ha). Esta evaluación será durante dos años (años quinto y sexto). Sobre la base de los resultados de la prueba de descendencias, los mejores padres o sus mejores descendencias serán puestos en policruzas. Se puede considerar la realización de 10 policruzas anuales; así, en el séptimo año se obtendrá el sintético 1. Se sugiere la realización de hasta un sintético 3 (noveno año) antes de iniciar la producción comercial de semillas de la nueva variedad.

Perspectivas

Las perspectivas pueden estar encaminadas a tres aspectos: molecular, fisiológico y agronómico.

a) Aspecto molecular. Sería interesante tener acceso a los determinantes genéticos y moleculares de los mecanismos implicados en la producción de semilla.

be produced. Production of up to a synthetic 3 (ninth year) is suggested before beginning commercial production of a new seed variety.

Future research

Future research can be focused on three aspects: molecular; physiological; and agronomic.

a) Molecular. An interesting research focus would be identifying the genetic and molecular determinants of the mechanisms involved in seed production. A selection could be started with the help of QTL markers to maximize genetic progress per selection cycle. However, it might be necessary to limit this research to simpler physiological components, like seed number per pod. There are currently proposed genetic markers in alfalfa in the USA and Europe^(48,49).

b) Physiological. Seed production within the pasture needs to be understood. First, analysis needs to be done of dry matter distribution between different plant organs during the reproductive stage⁽⁵⁰⁾. Next, the most relevant growth unit within the pasture needs to be identified, be it the stem or the plant, since both are genetically different in synthetic varieties like alfalfa. Finally, analysis is needed of the spatial structure of seed production in a pasture to determine the best sampling method. This can have a vertical and horizontal distribution⁽⁵¹⁾.

c) Agronomic. Taking into account that aerial biomass partially explains environmentally induced variations in seed production; agronomic practices (e.g. optimization of irrigation, harvest dates, leaf disease control) are suggested that maximize production, but control for excessive plant growth to avoid bending.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank C. Ecalle, J. Jousse and A. Gilly from the INRA (National Institute of Agricultural Research) in Lusignan, France, for their technical support. Thanks also to the INIFAP, CONACyT and SFERE (French Society for Export

embargo, quizá sea necesario limitar esta investigación a componentes fisiológicos más simples, como lo es el número de semillas por vaina. En la actualidad, existen cartas genéticas en *b) Aspecto fisiológico*. Es necesario entender la elaboración de la producción de semilla dentro de una pradera. Primero analizando la distribución de la materia seca entre los diferentes órganos de la planta, durante la etapa reproductiva de la planta⁽⁵⁰⁾. Luego identificar la unidad de crecimiento más pertinente dentro de una pradera; el tallo o la planta, ya que ambos son genéticamente diferentes, en el caso de variedades sintéticas como la alfalfa. Por último, es importante analizar la estructura espacial de la producción de semillas dentro de una pradera para determinar el método mejor de muestreo. Esta distribución puede tener una dimensión vertical y horizontal⁽⁵¹⁾.

c) Aspecto agronómico. Considerando que la biomasa aérea explica en parte las variaciones de la producción de semilla inducidas por el medio, se sugiere la utilización de prácticas agronómicas (optimización de la irrigación, fechas de corte, control de enfermedades foliares) que maximicen la producción de la biomasa, pero debe controlarse el crecimiento excesivo de la planta para evitar el acame.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el soporte técnico proporcionado por C. Ecalle, J. Jousse y A. Gilly, todos ellos del INRA (Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas) de Lusignan, Francia. También se agradece al INIFAP, CONACyT y al SFERE (Sociedad Francesa para la Exportación de Recursos Educativos) por el soporte financiero.

LITERATURA CITADA

1. Huyghe C. Les semences fourragères. In: Etat des lieux filicre fourrage. Document provisoire. INRA 2000; 42-51.
2. Falcinelli M. Temperate forage seed production: conventional and potential breeding strategies. Intern Herb Seed Prod Res Group 2000;31:7-15.

of Educational Resources) for their financial assistance.

End of english version

-
3. Regambert M, Nardi L. 20 ans aprcs, la luzerne refait surface. Bulletin semences 1998; 21-22.
 4. Dattée Y. Analyse quantitative de l'auto- et de l'interfertilité chez quelques familles de luzerne. Ann Amélior Plantes 1972; 22: 5-21.
 5. Lenéguer R. Etude de la relation entre les fertilités mâle et femelle chez la luzerne (*Medicago sativa* L.). Rapport de stage de l'ENSA Toulouse: 1997.
 6. Rosellini D, Lorenzetti F, Bingham ET. Quantitative ovule sterility in *Medicago sativa*. Theor Appl Genet 1998;97:1289-1295.
 7. Auriel PH. Etude de la fertilité des gaméophytes mâles et femelles chez la luzerne (*Medicago sativa* L.). Diplôme d'Agronomie Approfondie. ENSA Toulouse 1998.
 8. Kreitner GL, Sorensen EL. Structure of the keel-locking mechanism in insect-pollinated and self-pollinated alfalfa species. Crop Sci 1985;25:631-634.
 9. Knapp EE, Teuber LR. Selection progress for ease of floret tripping in alfalfa. Crop Sci 1994;34:323-326.
 10. Zambrana T. Components of seed yield in different varieties of alfalfa. Rev Cubana Cienc Agric 1972;6:289-299.
 11. Boçsa I, Buglos J. Seed yield and some factors influencing seed setting at the variety level in lucerne. Z Pflanzenzüchtg 1983;90:172-176.
 12. Boçsa I, Pummer L. Seed production and breeding for stability of fertility. In: Chloupek O, Simon editores. Seed production of lucerne, Prague 1997;87-93.
 13. Bolanos-Aguilar ED. Etude génétique de la production de graines chez la luzerne (*Medicago sativa* L.) [Thèse de doctorat]. Rennes, France: Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes; 2001.
 14. Rausch H. Causes of infertility in lucerne (*Medicago media* Pers). Investigations on correlations between factors determining yields. Zeitsch Pflanzen 1964;51:141-166.
 15. Bolanos-Aguilar ED, Huyghe C, Julier B, Ecalle C. Genetic variation for seed yield and its components in alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations. Agronomie 2000;333-345.
 16. Julier B., Huyghe C, Ecalle C. Within- and among-cultivar genetic variation in alfalfa: forage quality, morphology and yield. Crop Sci 2000;40:365-369.
 17. Huyghe C. Genetics and genetic modifications of plant architecture in grain legume: a review. Agronomie 1998;18:383-411.
 18. Bolton JL, Fryer JR. Inter-plant variations in certain seed setting processes in alfalfa. Sci Agric 1937;18:148-160.
 19. Hacquet J. Genetic variability and climatic factors affecting lucerne seed production. J Appl Seed Prod 1990;8:59-67.

PESO DE INFLORESCENCIA PARA SELECCIÓN DE SEMILLA EN ALFALFA

20. Gardner A, Davis RL. Effect of self-compatibility on chance crossing in *Medicago sativa* L. *Crop Sci* 1966;6:61-63.
21. Djukic HG. Microspore derived embryogenesis. In: Cristi M, Tiezzi A editores. *Sexual plant reproduction*. Springer-Verlag 1992:1-16.
22. Bolanos-Aguilar ED, Huyghe C, Ecalle C, Hacquet J, Julier B. Effect of cultivar and environment on seed yield in alfalfa. *Crop Sci* 2002;42(1):45-50.
23. Haaland R, Dane F, Lentner M, Melton B. Effects of years, planting arrangements, and methods of pollination on combining ability for seed set of alfalfa. *Crop Sci* 1975;15:306-308.
24. Campbell TA, He Y. Factorial analysis of self-incompatibility in alfalfa. *Can J Plant Sci* 1997;77:69-73.
25. Singh SM. Genetic basis of seed setting in alfalfa. *Theor Appl Genet* 1978;51:297-304.
26. Vachunova A, Vagnerova V, Mrasek O. Combining ability for seed production in Lucerne. *Proc. Medicago sativa Group of Eucarpia 27-30 Aug. Brno Czechoslovakia 1984:107-116*.
27. Bolanos-Aguilar ED, Huyghe C, Djukic D, Julier B, Ecalle C. Genetic control of alfalfa seed yield and its components. *Plant Breeding* 2001;120:67-72.
28. Knapp EE, Teuber LR. Outcrossing rate of alfalfa populations differing in ease of floret tripping. *Crop Sci* 1993;33:1181-1185.
29. Christophe C. Action de la densité de plantation sur des paramctres génétiques de la luzerne. *Ann Amélior Plantes* 1973;23:67-76.
30. Rotili P, Zannone L. Principaux aspects d'une méthode de sélection de la luzerne basée sur des dispositifs qui utilisent la concurrence entre les plantes. *Ann Amélior Plantes* 1975;25:29-49.
31. Charmet G, Balfourier F, Ravel C, Denis JB. Genotype x environment interactions in a core collection of French perennial ryegrass populations. *Theor Appl Genet* 1993;86:731-736.
32. Desclaux D. De l'intérêt de génotypes révélateurs de facteurs limitants dans l'analyse des interactions génotype*milieu chez le soja (*Glycine max.* L. Merrill). [Thèse de doctorat], Institut National Polytechnique de Toulouse; 1996.
33. Gregorius HR. The genotype x environment to phenotype relationship. *Theor Appl Genet* 1977;49:165-176.
34. Hulmel M. Expliquer l'interaction génotype*milieu par des génotypes révélateurs chez le blé tendre d'hiver [Thèse de doctorat]. Rennes, France: Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes; 1999.
35. Li Y, Min J. The effect of irrigation times and sowing density on the growth and seed production of alfalfa. *Acta Prataculturae Sinica* 1998;3:29-33.
36. Abu-Shakra S, Bhatti ML, Ahmed H. Effect of forage harvest frequency on subsequent seed production. *Agron J* 1977;69:428-431.
37. Abu-Shakra S, Akhtar M, Bray DW. The influence of irrigation interval and plant density on alfalfa seed production. *Agron J* 1969;61:569-571.
38. Askarian M, Hampton JG, Hill MJ. Effect of row spacing and sowing rate on seed production of lucerne (*Medicago sativa* L.) cv. Granssland Oranga. *N Z J Agric Res* 1995;38:289-295.
39. Taylor AJ, Marble VL. Lucerne irrigation and soil water-use during bloom and seed set on a red-brown earth in southeastern Australia. *Aust J Exp Agric* 1986;26:577-581.
40. Hutmacher RB, Steiner JJ, Vail SS, Ayars JE. Crop water stress index for seed alfalfa: influences of within-season changes in plant morphology. *Agric Water Manag* 1991;19:135-149.
41. Griffith S. Changes in dry matter, carbohydrate and seed yield resulting from lodging in three temperate grass species. *Ann Bot* 2000;85:675-680.
42. Genter T, Deléens E, Fleury A. Influence of photosynthetic restriction due to defoliation at flowering on seed abortion in lucerne (*Medicago sativa* L.). *J Exp Bot* 1997;48:1815-1823.
43. Pedersen MW, Petersen GE, Bohart GE, Levin MD. A comparison of the effect of complete and partial cross-pollination of alfalfa on pod set, seeds per pod, and pod and seed weight. *Agron J* 1956;48:177-180.
44. Lewis J. Reproductive growth in *Lolium*. 1. Evaluation of genetic differences within an established variety by means of a diallel cross. *Euphytica* 1970;19:470-479.
45. Lorenzetti F. Achieving potential herbage seed yields in species of temperate regions. *Proceeding of the XVII International grassland congress*. Perugia, Italy 1993:1621-1628.
46. Katepa-Mupondwa FM, Barnes DK, Smith SR Jr. Influence of parent and temperature during pollination on alfalfa seed weight and number of seeds per pod. *Can J Plant Sci* 1996;76:259-262.
47. Gallais A. *Théorie de la sélection en amélioration de plantes*, Masson. 1^{re} ed. Paris; 1990.
48. Brouwer DJ, Osborn TC. A molecular marker linkage of tetraploid alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Theor Appl Genet* 1999;99:1194-1200.
49. Julier B, Henri D, Ecalle C, Huyghe C. Tetraploid alfalfa mapping using AFLP markers and research of markers of pollen fertility. *Proceed XIV Eucarpia Medicago spp. Group Meeting* 2001:41-46
50. Bolanos-Aguilar ED, Huyghe C, Julier B, Ecalle C. Dry matter accumulation and partitioning between vegetative and reproductive organs in alfalfa (*Medicago sativa* L.). In: XIX International grassland congress. 11-21 February Sao Pedro, Sao Paulo, Brazil. 2001;143-145.
51. Huyghe C, Julier B, Bolanos-Aguilar ED, Ecalle C. 3D distribution of seed yield in alfalfa seed canopy. *Proceed XIV Eucarpia Medicago spp. Group Meeting*. Zaragoza, Espana. 2001:37-40.

