

Melhoramento genético de *Brachiaria ruziziensis* Germain
& Evrard (sin. *Urochloa ruziziensis*) autotetraploide:
resultados do segundo ciclo de seleção intrapopulacional
e estratégias para aumentar a eficiência da seleção



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Gado de Corte
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
50**

Melhoramento genético de *Brachiaria ruziziensis*
Germain & Evrard (sin. *Urochloa ruziziensis*)
autotetraploide: resultados do segundo ciclo
de seleção intrapopulacional e estratégias
para aumentar a eficiência da seleção

*Rosangela Maria Simeão
Andrea Raposo
Mariane de Mendonça Vilela
Felipe Bittencourt Martins
Marcos Deon Vilela de Resende
Sanzio Carvalho Lima Barrios
Karem Guimarães Xavier Meireles
Cacilda Borges do Valle
Liana Jank
Mateus Figueiredo Santos
Anete Pereira de Sousa*

Embrapa Gado de Corte
Campo Grande, MS
2022

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Gado de Corte
Av. Rádio Maia, 830, Zona Rural, Campo Grande, MS,
79106-550, Campo Grande, MS
Fone: (67) 3368 2000
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Gado de Corte

Presidente
Rodrigo Amorim Barbosa

Secretário-Executivo
Rodrigo Carvalho Alva

Membros
Alexandre Romeiro de Araújo, Davi José
Bungenstab, Fabiane Siqueira, Gilberto Romeiro
de Oliveira Menezes, Luiz Orcício Fialho de
Oliveira, Marcelo Castro Pereira, Mariane de
Mendonça Vilela, Marta Pereira da Silva, Mateus
Figueiredo Santos, Vanessa Felipe de Souza

Supervisão editorial
Rodrigo Carvalho Alva

Revisão de texto
Rodrigo Carvalho Alva

Tratamento das ilustrações
Rodrigo Carvalho Alva

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Rodrigo Carvalho Alva

Foto da capa
Eloise Saldivar

1ª edição
Publicação digitalizada (2022)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Nome da unidade catalogadora

Melhoramento genético de *Brachiaria ruziziensis* Germain & Evrard (sin.
Urochloa ruziziensis) autotetraploide : resultados do segundo ciclo de
seleção intrapopulacional e estratégias para aumentar a eficiência da
seleção / Rosângela Maria Simeão ... [et al.]. – Campo Grande, MS :
Embrapa Gado de Corte, 2022.

PDF (30 p.) : il. color. – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento /
Embrapa Gado de Corte, ISSN 1983-9715 ; 50).

1. Gramínea forrageira. 2. *Brachiaria ruziziensis*. 3. Melhoramento
genético vegetal. 4. Seleção genética. 5. Teste de progênie. I. Simeão,
Rosângela Maria. II. Raposo, Andrea. III. Vilela, Mariane de Mendonça.
IV. Martins, Felipe Bittencourt. V. Resende, Marcos Deon Vilela de. VI.
Barrios, Sanzio Carvalho Lima. VII. Meireles, Karem Guimarães Xavier.
VIII. Valle, Cacilda Borges do. IX. Jank, Liana. X. Santos, Mateus
Figueiredo. XI. Sousa, Anete Pereira de. XII. Série.

CDD 633.2

Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Introdução.....	7
Material e Métodos	10
Avaliação fenotípica	10
Análise do modo de reprodução.....	11
Análise estatística dos dados de produção	12
Resultados e discussão.....	14
Modo de reprodução	14
Parâmetros genéticos e seleção	16
Referências	28

Melhoramento genético de *Brachiaria ruziziensis* Germain & Evrard (sin. *Urochloa ruziziensis*) autotetraploide: resultados do segundo ciclo de seleção intrapopulacional e estratégias para aumentar a eficiência da seleção

Rosangela Maria Simeão¹, Andrea Raposo¹, Mariane de Mendonça Vilela¹, Felipe Bittencourt Martins², Marcos Deon Vilela de Resende³, Sanzio Carvalho Lima Barrios¹, Karem Guimarães Xavier Meireles¹, Cacilda Borges do Valle^{1*}, Liana Jank¹, Mateus Figueiredo Santos¹, Anete Pereira de Sousa⁴

Resumo – Pontos cruciais no melhoramento de gramíneas forrageiras tropicais do gênero *Urochloa* são o monitoramento constante do modo de reprodução e a comparação dos tratamentos com alta precisão, tanto no programa de melhoramento intra quanto interespecífico. O modo de reprodução pode determinar a segregação da apomixia:sexualidade nas progênies e isso requer correções nos parâmetros genéticos e nos valores genéticos preditos dos indivíduos. O elevado número de progênies e indivíduos avaliados exige uma extensa área de experimentação o que invariavelmente promove uma maior variabilidade espacial e limita o número de repetições, o que invariavelmente promove uma maior variabilidade espacial. Os objetivos deste trabalho foram, portanto, determinar o modo de reprodução das plantas-mãe do segundo ciclo de melhoramento de *U. ruziziensis* tetraploide e sexual e analisar a tendência espacial na avaliação das progênies da mesma espécie. Das 100 plantas-mãe selecionadas no primeiro ciclo reprodutivo, seis apresentaram um modo de reprodução exclusivamente sexual. As proporções de sacos embrionários apospóricos, meióticos e anormais foram utilizadas para corrigir os parâmetros genéticos e prever os valores genotípicos (VGs) dos indivíduos selecionados. A análise espacial de todas as características associadas à produtividade de forragem, nos períodos de excesso e déficit hídrico anual, aumentou a magnitude da herdabilidade, exceto a produção de matéria seca foliar no déficit hídrico.

¹ Pesquisadores da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS; ² Doutorando da Unicamp, Campinas, SP; ³ Pesquisador da Embrapa Café, Viçosa, MG; ⁴ Professora e pesquisadora da Unicamp, Campinas, SP

Outrossim, a concordância entre os indivíduos selecionados pela metodologia de modelos mistos sem a incorporação da análise espacial e com a incorporação da análise espacial variou de 57% a 77%, para uma intensidade de seleção de 0,1. A tendência espacial, quando presente, deve ser considerada em conjunto com métodos de fenotipagem de alto rendimento e seleção genômica, a fim de aumentar a eficiência da seleção em programas de melhoramento.

Termos para indexação: análise espacial, apomixia, gramínea forrageira, fenotipagem, predição genética, teste de progênies, valores genotípicos.

Abstract – *Crucial points in the breeding of tropical forage grasses of the genus Urochloa breeding are the need of constant monitoring of the mode of reproduction and of the comparison of treatments with high accuracy in both intra and interspecific breeding programs. The mode of reproduction may determine the segregation of sexuality: apomixis in progenies and requires corrections in genetic parameters and in individual predicted breeding values (BVs). The high number of families and individuals being evaluated requires an extensive area of experimentation which invariably increases spatial variation and limits the number of replications. The objectives of this work were, therefore, to determine the mode of reproduction of the mother plants of the second breeding cycle of tetraploid and sexual U. ruziziensis and to analyze the spatial trends in the progeny test trial of this species. Of the 100 mother plants selected in the first breeding cycle, six showed an exclusively sexual mode of reproduction. The proportions of aposporic, meiotic and abnormal embryo sacs were used to correct the genetic parameters and to predict the BVs of the individuals under selection. Spatial analysis of all characteristics associated with forage yield, in the periods of annual water surplus and deficit, increased the magnitude of heritability, except for leaf dry matter yield in the water deficit condition. Furthermore, the agreement between individuals selected by mixed models without incorporation of spatial analysis and with the incorporation of spatial analysis ranged from 57% to 77%, for a selection intensity of 0.1. Spatial trend, when present, should be considered in conjunction with high throughput phenotyping methods and genomic selection, in order to increase selection efficiency in breeding programs.*

Index terms: spatial analysis, apomixis, forage grass, phenotyping, genetic prediction, progeny test, breeding values, additive variance.

Introdução

Quatro espécies do gênero *Urochloa* (sin. *Brachiaria* – *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. ruziziensis* e *B. humidicola*) são as gramíneas forrageiras comercialmente mais importantes em toda a América tropical. No Brasil, entre as gramíneas forrageiras tropicais, as desse gênero respondem por 75% da produção de sementes produzidas (LANDAU *et al.*, 2020) e por 80% da área de pastagens cultivadas (JANK *et al.*, 2014). Um dos principais objetivos dos programas de melhoramento genético é a obtenção de híbridos apomíticos que reúnam as características superiores de duas espécies apomíticas, *U. decumbens* e *U. brizantha*. Entretanto, tal recombinação genética apenas é possível por meio do uso da *U. ruziziensis* tetraploidizada e de reprodução sexual como intermediária, pelo menos no início do programa. A *U. ruziziensis* também contribui com características de qualidade nutricional, velocidade de estabelecimento e capacidade de produção de sementes (MILES *et al.*, 1996).

A apomixia em *Urochloa* é do tipo apospórica, na qual os gametófitos femininos são formados de células somáticas nucelares e se desenvolvem em embriões geneticamente idênticos à planta mãe por partenogênese, portanto, o material genético materno é reproduzido por meio de sementes clonais. Os sacos embrionários apomíticos podem ser distinguidos dos meióticos normais usando técnicas de clareamento do pistilo e análise microscópica (YOUNG *et al.*, 1979). Outra forma de determinar o modo de reprodução de um indivíduo oriundo de cruzamento é por meio do marcador molecular ASGR-BBML, associado à região genômica específica da aposporia (WORTHINGTON *et al.*, 2016), com cerca de 85% de probabilidade de acerto.

Segundo Ozias-Akins e Dijk (2007), a aposporia em *Urochloa* é controlada por um único fator dominante de herança Mendeliana, denotado de região genômica específica da aposporia, em inglês “apospory-specific genomic region” (ASGR). Acessos diplóides em qualquer uma das espécies do gênero são exclusivamente sexuais, enquanto que os poliploides, maioria tetraploides, são apomíticos. Na duplicação dos cromossomos dos acessos sexuais, para obtenção de tetraploides, o modo de reprodução sexual é mantido e no cruzamento desses com acessos apomíticos e tetraploides, espera-se a segregação de 1:1, para o modo de reprodução (MILES;

ESCANDÓN, 1996). Entretanto, sacos embrionários meióticos e apomíticos são frequentemente encontrados numa mesma planta, o que indica que essa planta apresenta um modo de reprodução por apomixia facultativa. Embora a apomixia facultativa seja comum, o seu controle genético ainda é pouco conhecido (REUTEMANN *et al.*, 2022). Na prática, materiais com apomixia facultativa são indesejados, pois podem dar origem a sementes clonais e híbridas, com frequência variável, dependendo da proporção evidenciada de sacos embrionários meióticos e apospóricos na planta-mãe, e, depois, na progênie (REUTEMANN *et al.*, 2022). Portanto, um constante monitoramento do modo de reprodução dos genitores nos programas de melhoramento, tanto intraespecíficos quanto interespecíficos, é essencial. Além disso, essa informação pode ser utilizada para corrigir os valores genéticos/genotípicos para os caracteres sob seleção nas progênies e indivíduos, quando for o caso.

Desde 2010 está em andamento na Embrapa Gado de Corte a avaliação e a seleção intrapopulacional de *U. ruziziensis* tetraploide e sexual visando fornecer genitores femininos para os cruzamentos interespecíficos (RESENDE *et al.*, 2012) e melhoramento do gênero. Os indivíduos selecionados na população de *U. ruziziensis* tetraploide vem sendo monitorados quanto ao modo de reprodução, pois as progênies são obtidas por meio de polinização aberta.

Genótipos sexuais de *Urochloa* são auto incompatíveis e, portanto, alógamos (NGENDAHAYO *et al.*, 1988) e como fazem parte do complexo agâmico *U. brizantha* – *U. decumbens* – *U. ruziziensis*, as três espécies podem contribuir para a polinização dos indivíduos sexuais de *U. ruziziensis*. As espécies apomíticas são hermafroditas, bem como as de reprodução sexuada, e produzem grãos de pólen meioticamente reduzidos, portanto, podem ser doadoras de pólen nos cruzamentos com as plantas de reprodução sexuada (OZIAS-AKINS; DIJK, 2007). Além disso, o monitoramento do modo de reprodução da população de *U. ruziziensis* poderá auxiliar na avaliação da eficiência da barreira física usada para evitar a mistura com pólen de outras espécies. Independentemente do modo de reprodução, a formação do endosperma da semente depende do pólen, o que é também um fator que contribui para a sua viabilidade.

Um segundo aspecto avaliado nas progênies no segundo ciclo de seleção foi a potencial variação espacial na experimentação de campo, uma vez que foram avaliadas mais progênies nesse do que no primeiro ciclo, o que torna a obtenção de blocos homogêneos mais difícil. Inúmeros fatores ambientais podem contribuir nas diferenças entre parcelas e, assim, influenciar na avaliação da produção e de outros caracteres, e, principalmente, promover falhas na seleção dos genótipos superiores. Parte dessa variação espacial pode ser determinada inconscientemente no preparo da área, na adubação, e até mesmo no momento do plantio (RODRIGUEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2018). Outros fatores podem ocorrer ao longo do tempo, já que se trata de uma espécie perene, como por exemplo a competição e o eventual ataque de pragas, os quais também interferem na seleção. Os métodos de análise a posteriori servem para dar ao melhorista uma excelente visão sobre como a heterogeneidade espacial afetou a avaliação genética. Obviamente, a existência desses métodos não elimina a necessidade da adoção dos três princípios básicos da experimentação: casualização, repetição e controle local (FISHER, 1935).

Há basicamente duas formas de modelar a tendência espacial experimental: uma baseada nas estruturas espaciais de variância-covariância e a outra em técnicas de “suavização” (*smoothing*) (RODRIGUEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2018). Esse segundo método modela a tendência espacial explicitamente e é bem mais simples de ser aplicado do que o primeiro (PIEPHO *et al.*, 2022). O modelo SpATS (*Spatial Analysis of field Trials with Splines*) mostrou-se eficiente no controle da variação espacial quando comparado com os modelos mais complexos (VELAZCO *et al.*, 2017; ANDRADE *et al.*, 2020). Dessa forma, o modelo SpATS foi adotado na análise espacial nesse trabalho.

Os objetivos nesse estudo foram avaliar o modo de reprodução das plantas-mães selecionadas no primeiro ciclo de melhoramento, selecionar os melhores indivíduos do teste de progênies com base na análise de modelos lineares mistos e determinar o potencial da análise espacial em aumentar a eficiência da seleção comparando a seleção de indivíduos com base nos dois modelos de análise.

Material e Métodos

Avaliação fenotípica

O bloco de cruzamento das plantas-mães, selecionadas no primeiro ciclo, e o teste das suas progênes foram realizados na Embrapa Gado de Corte, em Campo Grande, MS, aos 20°28' de latitude Sul, 55°40' longitude Oeste e 530 m de altitude. O solo da área experimental é do tipo Haplic Ferralsol (Rhodic) (FAO, 2006). O clima é classificado como Aw, de acordo com a classificação de Köppen, e caracterizado como tropical úmido, com verão chuvoso e inverno seco.

Os 100 melhores indivíduos avaliados no primeiro ciclo de seleção intrapopulacional foram selecionados com base nos seus valores genéticos preditos para os caracteres produção de matéria seca foliar nos períodos de águas e seca e para a produção de sementes, que compuseram um índice de seleção para a sua identificação (SIMEÃO *et al.*, 2016). Esses 100 indivíduos foram clonados a partir das plantas originais do primeiro teste de progênes e plantados em uma nova área, com três repetições, compondo assim o bloco de cruzamento das plantas-mães para o segundo ciclo de melhoramento. Nessa nova área, as plantas foram espaçadas em 1,5 m e plantadas de forma circular em cada repetição, de forma a facilitar e garantir a troca de pólen entre elas. Após o seu estabelecimento, as sementes foram colhidas a partir das infrutescências (do cacho) para garantir a identificação materna e de que não houve contaminação por sementes advindas de plantas vizinhas, o que poderia ocorrer caso fossem colhidas do chão, por exemplo. Em todos experimentos uma barreira física de plantas de elevado porte (capim-elefante) foram plantados em três fileiras, visando evitar a contaminação de pólen estranho às plantas do experimento.

As 100 progênes de meios-irmãos de *B. ruziziensis* foram plantadas em 30/01/2018 por meio de mudas formadas a partir de sementes colhidas de cada uma das 100 plantas-mãe do bloco de cruzamentos. O experimento foi delineado em blocos ao acaso com 10 repetições e uma planta na parcela, espaçadas em 1,5 m x 1,5 m, ou seja, de cada progênie foram avaliados 10 indivíduos. Cada parcela foi avaliada por meio de cortes que foram rea-

lizados nas seguintes datas: 1- 04/07/2018; 2- 10/10/2018; 3- 20/11/2018; 4- 18/12/2018; 5- 30/01/2019; 6- 11/03/2019 e 7- 18/11/2019.

Baseados nas datas dos cortes e nos seus intervalos, em números de dias, os cortes 1, 3, 4, 5 e 6 foram realizados em datas em que a precipitação média observada foi de 290 mm mensal com diária de 6,24 mm, portanto, um período de excesso hídrico; enquanto que nos cortes 2 e 7, a pluviosidade observada foi de 204 mm mensal com diária de 1,16 mm e foi considerado como período de déficit hídrico. Especificamente, entre o plantio e o corte 1, a precipitação média foi de 574 mm com diária de 3,73 mm; entre o corte 1 e o corte 2, de 174 mm com diária de 1,78 mm; entre o corte 2 e o corte 3, de 107 mm com diária de 2,62 mm; entre o corte 3 e o corte 4, de 65,8 mm com diária de 2,35 mm; entre o corte 4 e o corte 5, de 163 mm com diária de 3,8 mm; entre o corte 5 e o corte 6, de 33 mm com diária de 8,34 mm; e entre o corte 6 e o corte 7, de 459 mm com diária de 1,83 mm.

Os caracteres avaliados em todos os cortes foram: produção individual de matéria verde total (PV) e matéria seca total (PMST), em t/ha. A produção de matéria seca de folhas (PMSF) e de colmos (PMSC), em t/ha, foram avaliadas em plantas individuais no corte 7.

Nesse segundo ciclo, a seleção dos indivíduos de cada uma das progênies de *U. ruziziensis* também foi baseada na produção de matéria seca total e foliar, como foi no primeiro ciclo, uma vez que foi evidenciada uma nula/baixa variabilidade genética ($0,01 < h^2 < 0,18$) para os caracteres importantes associados à qualidade nutricional (SIMEÃO *et al.*, 2017).

Análise do modo de reprodução

As 100 plantas-mães e cada um dos seus clones foram submetidos à análise citológica dos sacos embrionários visando determinar o seu modo de reprodução. A metodologia adotada nessa análise foi a mesma descrita por Raposo *et al.* (2019) na qual foram anotados os números de sacos embrionários apospóricos múltiplos ou único e de sacos meióticos, bem como daqueles anormais, identificados como sacos estéreis, atrofiados, não definidos ou com outra anormalidade. Na classificação final foi anotada a proporção de cada grupo, quais sejam, apospóricos, meióticos e anormais em

relação ao número total de sacos embrionários analisados, média de 30, em cada planta-mãe.

Além da análise citológica, essas plantas-mães foram submetidas à análise com o marcador molecular ASGR-BBML, associado à região genômica específica da aposporia, utilizando os primers específicos *p779/p780*, e avaliadas com base na presença ou ausência do produto de amplificação, o qual pode caracterizar o indivíduo de *Brachiaria* como sendo, respectivamente, apomítico ou sexual (WORTHINGTON *et al.*, 2016). Essa análise teve como objetivo corroborar ou não o resultado da análise citológica, a qual é dependente de amostragem e de fatores ambientais que podem influenciar a expressão do caráter.

Análise estatística dos dados de produção

Na análise estatística dos dados do segundo ciclo de seleção de *U. ruziziensis* foi necessário considerar a proporção de sacos embrionários apospóricos e meióticos nas diferentes progênes. Dessa forma, as análises univariadas para os períodos de excesso e de déficit hídrico foram realizadas usando o pacote estatístico-genético Selegen REML/BLUP (RESENDE, 2016). Foi considerado inicialmente o seguinte modelo: $y = X_m + Z_g + T_s + e$, em que **y** é o vetor de dados, **m** é o vetor dos efeitos das combinações medição-repetição (assumidos como fixos) somados à média geral, **g** é o vetor dos efeitos genotípicos (assumidos como aleatórios), **s** é vetor dos efeitos de ambiente permanente (aleatórios) e **e** é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos. O vetor **m** contempla todas as medições em todas as repetições e ajusta simultaneamente para os efeitos de repetições, medição e interação repetição x medição. Nesse modelo, é estimada a variância genotípica total e a herdabilidade no sentido amplo entre progênes.

A variância genética aditiva, dos indivíduos sexuais que seguirão nos ciclos subsequentes de seleção intrapopulacional, foi estimada a partir das informações disponíveis da média da proporção de sacos embrionários apospóricos (%Apo) e meióticos (%S) nas plantas-mães, mesmo sem o conhecimento se essa proporção se mantém na progênie, utilizando a seguinte equação:

$$\sigma_a^2 = \sigma_g^2 / [\mu(\%S) \frac{1}{4} + \mu(\%Apo)]$$

sendo que σ_g^2 é a variância genotípica total estimada entre progênies e μ é a média das proporções dos sacos embrionários. Desta forma, é possível estimar a herdabilidade no sentido restrito das progênies no segundo ciclo de seleção e obter os BLUPs dos indivíduos para cada variável. O teste de hipóteses no contexto dessas análises foi realizado usando o teste de razão de verossimilhança (*LRT – likelihood ratio test*), o qual avalia as diferenças entre a *deviance* associada ao ajuste de dois modelos alternativos, conforme descrito por Simeão *et al.* (2016), usando as mesmas considerações estatísticas.

As proporções de sacos embrionários meióticos, apospóricos e anormais nas plantas-mães foram analisadas por meio de componentes principais conjuntamente com os seus valores genéticos (BLUPs) preditos para os caracteres de produção de matéria verde e seca nos períodos de déficit e excesso hídrico anual e um índice de seleção aditivo para esses caracteres de produção. As análises foram realizadas no software PAST versão 4.08 (HAMMER *et al.*, 2001).

O fato de ter sido evidenciada uma baixa variação genética entre indivíduos e uma elevada variação ambiental temporária nas análises efetuadas por modelo misto, nesse experimento de segundo ciclo de seleção, foi um motivador para realização de análises estatísticas visando conhecer e lidar com a variação espacial. Para tanto, os dados médios dos caracteres de produção dos cortes no período de excesso e de déficit hídrico foram utilizados nas análises espaciais.

Nesse trabalho, analisamos os dados fenotípicos usando o SpATS (*Spatial Analysis of field Trials with Splines*) por meio do pacote “SpATS” versão 1.0-16 (RODRIGUEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2018) disponível no repositório CRAN da plataforma R (R Core Team, 2022). O seguinte modelo foi assumido:

$$y = f(v, u) + Z_g c_g + Z_r c_r + Z_c c_c + \varepsilon,$$

em que v e u denotam as posições das colunas (c) e linhas (r), g denota o componente genético e ε , os resíduos, sendo que na estrutura P-spline, a função bivariada $f(v, u)$ é modelada pelo produto tensor das bases B-spline (DIERCKX, 1993); em que

$$c_g \sim N(0, \sigma_g^2 I_{1000}), c_r \sim N(0, \sigma_r^2 I_{50}) \text{ e } c_c \sim N(0, \sigma_c^2 I_{20}).$$

e Z são as correspondentes matrizes de incidências. Nesse modelo, os efeitos de linha, coluna e genótipos são aleatórios. Dessa forma, é possível estimar a herdabilidade generalizada, conforme proposto por Oakey *et al.* (2006).

Os valores genéticos preditos pela análise de modelos mistos sem a incorporação da análise espacial e com a incorporação da análise espacial foram comparados com a seleção genotípica realizada pela análise espacial por meio de correlação de ranking (correlação de Spearman) e pela correspondência de indivíduos selecionados entre os 100 melhores, ou seja, com intensidade de seleção de 10%, para cada um dos caracteres com base na análise de modelos mistos. A porcentagem de concordância foi calculada usando o coeficiente de Czekanowski (QIAO *et al.*, 2000):

$$C = \frac{a}{a+b}$$

em que *a* é o número de indivíduos selecionados por ambos modelos (métodos de uso corrente e alternativo) e *b* é o número de indivíduos selecionados apenas pelo método de uso corrente, no caso, modelo misto sem a incorporação da análise espacial. O método alternativo, portanto, é a análise espacial.

Resultados e discussão

Modo de reprodução

As análises citológicas dos sacos embrionários das 100 plantas-mães selecionadas no primeiro ciclo resultaram em informações importantes para essa população tetraploidizada, que supostamente deveria ter como modo de reprodução a sexualidade obrigatória pela forma como foi concebida e selecionada (SWENNE *et al.*, 1981; LUTTS e al., 1991), conforme descrito em Simeão *et al.* (2017).

Dos 2954 sacos embrionários analisados citologicamente, 1540 eram meióticos (52%), 663 apospóricos (22%) ou múltiplos e 753 eram anormais (26%). A proporção de sacos embrionários anormais encontrados é menor do que a evidenciada por Miles e Escandón (1996), que encontraram 54% desses na população sexual na qual trabalhavam. Na população de melho-

ramento da Embrapa Gado de Corte, conforme a classificação dos sacos embrionários, evidenciou-se que as proporções de sacos meióticos variaram de 5% a 85%; os apospóricos de 0 a 60% e os anormais de 3% a 79%, em diferentes indivíduos. De acordo com a análise citológica, a qual postula que a identificação de apenas um saco embrionário apospórico ou múltiplo entre aqueles analisados é suficiente para que a planta seja classificada como apomítica, foram encontrados apenas seis indivíduos entre as 100 plantas-mães com modo de reprodução sexual.

Uma maior investigação é necessária para determinar se híbridos oriundos de cruzamentos são ou não formados na progênie de indivíduos com elevada proporção de sacos meióticos e, ainda, se esses híbridos são viáveis em longo prazo. Essa informação é desconhecida em *Urochloa*. Nesse caso, a formação desses híbridos não corroboraria o critério de classificação supracitado quanto ao modo de reprodução. Na obtenção de híbridos interespecíficos no gênero *Urochloa*, tal conhecimento é essencial, uma vez que híbridos gerados com elevada proporção de sacos meióticos poderiam segregar e não gerariam uma progênie clonal e homogênea, esperada na multiplicação por sementes, caso se tornassem candidatos a novas cultivares.

Com base na análise molecular, pelo marcador ASGR-BBML utilizado, quatro das 100 plantas-mães teriam modo de reprodução sexual. Em três desses indivíduos, o marcador corroborou a análise citológica, ou seja, não haviam sido identificados sacos apospóricos ou múltiplos. Na quarta planta-mãe, o marcador identificou o indivíduo como sendo sexual, entretanto a análise citológica, era apomítica. Os outros dois indivíduos sexuais identificados pela análise citológica, o marcador identificou como sendo apomíticas. Portanto, o uso exclusivo do marcador molecular na identificação de indivíduos sexuais não é suficiente e os genitores dos cruzamentos bialélicos devem ter seu modo de reprodução corroborado por mais de um método.

Desses resultados, o fato mais importante foi a constatação de que a barreira física de isolamento da população de cruzamento não foi eficiente. Isso determina que a manutenção de indivíduos sexuais, seja *U. ruziziensis* tetraploide ou híbridos interespecíficos sexuais usados nas diferentes etapas da seleção recorrente, deve ser cuidadosa e esses indivíduos, permanentemen-

te monitorados. Tal procedimento deve ser mandatário num programa de melhoramento de gramíneas forrageiras apomíticas, de acordo com a expectativa de segregação Mendeliana da apomixia e seleção exclusiva de híbridos apomíticos para avaliação como potenciais cultivares.

O resultado da análise multivariada (PCA) das proporções dos sacos embrionários, conforme classificação nas plantas-mães, e a sua dispersão em dois planos conjuntamente com as características importantes associadas à produção forrageira, nos períodos de excesso e déficit hídrico está apresentado na Figura 1. Evidenciou-se que a planta-mãe sexual com maior índice para as características de produção (R6P7) foi, também, uma das que apresentou maior proporção de sacos embrionários anormais (79%). A segunda melhor planta-mãe sexual (R10P20) apresentou baixa taxa de anormalidade nos sacos embrionários (17%), entretanto, não apresentou boa classificação no índice. Na decisão sobre quais plantas-mães sexuais utilizar em futuros cruzamentos interespecíficos, a decisão recairia sobre as de menor anormalidade meiótica, considerando que a produção de sementes é uma característica essencial para o sucesso de um novo híbrido e deve ser mantida na população.

Entretanto, essa questão precisa ser cuidadosamente avaliada nos cruzamentos intra e interespecíficos quanto à característica produção de sementes viáveis, a qual é essencial em uma potencial cultivar comercial (RAGALZI *et al.*, 2021). Análises de híbridos interespecíficos em *Urochloa* indicam que há uma correlação negativa e significativa entre a porcentagem de anormalidades meióticas na microsporogênese e a produção de sementes puras viáveis (RAGALZI *et al.*, 2021). Entretanto, isso ainda precisa ser investigado na macrosporogênese nesse gênero e em híbridos interespecíficos.

Parâmetros genéticos e seleção

As estimativas dos parâmetros genéticos para as progênies de *B. ruiziensis* tetraploides do segundo ciclo de seleção estimadas por máxima verossimilhança restrita (REML) e corrigidas pelo modo de reprodução dos indivíduos estão apresentadas na Tabela 1. Em relação à variabilidade genética expressa no primeiro ciclo, para produção de matéria verde, seca e foliar, evidenciou-se uma expressiva redução nas magnitudes, principal-

mente durante o período de excesso hídrico (SIMEÃO *et al.*, 2016), mesmo considerando que as mesmas se mantiveram significativamente maiores do que zero ($P\text{-valor} < 0.01$), baseado no LRT. As magnitudes do parâmetro de repetibilidade foram superiores nesse segundo ciclo, exceto para rebrota no período de déficit hídrico. Os coeficientes de variação genética aditiva ($CV_{gi}\%$) reduziram em magnitude em comparação aos evidenciados no primeiro ciclo (SIMEÃO *et al.*, 2016), indicando uma redução da variação genética aditiva disponível para a seleção. Essa redução da variação genética pode ter como causa a expressiva variação ambiental (FALCONER; MACKAY, 1996) evidenciada nessa experimentação, conforme a análise espacial realizada (Figura 2), a qual demonstra o padrão da variabilidade espacial, baseada no variograma para produção de matéria verde durante o período de déficit hídrico.

Evidencia-se também a grande variação entre linhas (Figura 2a) antes da modelagem espacial, a qual é bastante reduzida depois da modelagem (Figura 2b). O platô do variograma variou de mais de 30.000 antes do ajuste a menos 1.600 da variância do erro após a modelagem da variação espacial. Os resíduos reduziram de 2.500 para 150, antes (Figura 1c) e depois (Figura 1d) do ajuste da variabilidade espacial. Isso demonstra o impacto do controle da variação global na redução do erro experimental.

A dispersão gráfica (plot) para as condições de déficit hídrico (Figura 3) e para o excesso hídrico (Figura 4) são apresentados para os dados brutos, para a tendência espacial ajustada e para os resíduos espaciais em para cada uma das características avaliadas pela modelagem espacial SpATS. Os fatores causais da variação espacial não são conhecidos, entretanto verifica-se que foram similares nos períodos de déficit e excesso hídrico para produção de matéria verde e seca.

Na Tabela 2 são apresentadas as dimensões efetivas relativas a todos os componentes do modelo SpATS. Os resultados indicam que, tanto no excesso quanto no déficit hídrico, a produção de matéria verde (PV) foi a característica que apresentou a maior variação espacial nas linhas e a produção de matéria seca foliar (PMSF) foi a de menor variação, sendo que a variação nas colunas para essa característica foi nula. As herdabilidades generalizadas obtidas para todas as características pela análise espacial foram maiores do que a herdabilidade no sentido restrito estima-

da por análise de modelos mistos sem a incorporação da análise espacial (Tabela 1), exceto para produção de matéria seca foliar no período de déficit hídrico. A comparação entre a herdabilidade generalizada (SpATS) e a herdabilidade no sentido restrito (h_a^2 – REML) não é adequada, uma vez que a primeira deve conter mais do que a variação genética aditiva em seu numerador, além de apresentar, obviamente, um melhor ajuste dos efeitos de linha e coluna, com menor erro. Esse aumento da herdabilidade foi evidenciado em experimentos com clones de batata (ANDRADE *et al.*, 2020) e linhagens de trigo (RODRIGUEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2018).

A correlação de Spearman entre os valores genéticos (BLUPs) preditos por modelos mistos sem a incorporação da análise espacial e os preditos pelo SpATS variaram de 49% para as variáveis de produção no período de excesso hídrico a 73% para produção de matéria seca foliar, no período de déficit hídrico (Tabela 2). Verifica-se que quanto maior a herdabilidade da característica maior a correlação entre os indivíduos selecionados pelos dois métodos de análise. A concordância entre os indivíduos selecionados, considerando uma intensidade de seleção de 10%, variou de 57%, para produção de matéria seca de colmo, a 77% para produção de matéria seca foliar, ambas no período de déficit hídrico.

A eficiência dos programas de melhoramento genético depende da acurada avaliação fenotípica dos indivíduos/famílias a serem selecionados nos experimentos de campo, principalmente nas fases iniciais em que inúmeros materiais são avaliados e, muitas vezes, há uma limitada possibilidade de realizar um grande número de repetições. No melhoramento de gramíneas forrageiras com diferentes modos de reprodução, tais questões são mais exacerbadas, pois em uma família podem estar sendo avaliados clones superiores, conjuntamente com indivíduos oriundos de cruzamentos sexuais, o que acrescenta mais fatores aleatórios de erro que demandam conhecimento e predição nos modelos, como a competição entre indivíduos, por exemplo. A continuidade de seleção de indivíduos sexuais superiores nas progênies demanda a análise citológica e por marcador molecular quanto ao modo de reprodução nos indivíduos melhor ranqueados com base em índice. Após essa etapa, é necessário realizar a clonagem dos indivíduos selecionados e proceder uma forma de isolamento mais eficiente para sua recombinação intraespecífica. Além disso, os melhores indivíduos sexuais também serão potenciais genitores

femininos no programa de obtenção de híbridos interespecíficos e seleção recorrente (BARRIOS *et al.*, 2013).

Os modelos espaciais permitem que sejam realizados ajustes na heterogeneidade espacial em experimentos e melhoram a eficiência nos casos em que os modelos mistos sem a incorporação da análise espacial não conseguem capturar adequadamente a heterogeneidade em toda a área experimental (PIEPHO *et al.*, 2022). Esse é um dos benefícios da sua aplicação. Ademais, com o investimento e uso cada vez mais intensivo de métodos de fenotipagem de alto rendimento (*high throughput phenotyping* – *HTP*), avaliação em múltiplos locais (PEREZ-VALENCIA *et al.*, 2022) e seleção genômica (VAN EEUWIJK *et al.*, 2019) uma maior confiabilidade é exigida na avaliação dos fenótipos individuais e posterior seleção com elevada acurácia. Adams *et al.* (2022) utilizaram análise SpATS para corrigir o fenótipo das características avaliadas por meio da remoção da tendência espacial sistemática em cada local de experimentação e usaram o fenótipo corrigido nas estimativas das capacidades gerais e específicas de combinação em híbridos diploides de batata, no melhoramento convencional. Assim, conseguiram evidenciar, pela primeira vez, heterose nesses materiais. Da mesma forma, Medina *et al.* (2021) corrigiram as características avaliadas em todos os cortes em todos os experimentos de seleção de alfafa para realizar a predição dos valores genéticos-genômicos (GEBVs), o que provavelmente também colaborou no aumento da acurácia da seleção genômica. A tendência espacial quando presente, deve ser considerada em conjunto com a aplicação de metodologias mais recentes de fenotipagem e genotipagem no melhoramento, o que, certamente, conduzirá a melhores resultados e aproveitamento das próprias metodologias. Modelos de aprendizado de máquina (*Machine Learning Models*) já estão sendo aplicados para isso e aumentando a eficiência do melhoramento (CASTRO *et al.*, 2020) e podem incorporar os dados corrigidos pelos modelos espaciais. Esses modelos devem se tornar rotina no melhoramento de forrageiras tropicais.

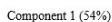


Figura 1. Gráfico da análise de componentes principais dos caracteres de produção (PV – peso verde, PMST – peso de matéria seca total, PMSF – peso de matéria seca foliar, nas águas e na seca), índice de seleção aditivo para todos os caracteres de produção e os encontrados na avaliação de sacos embrionários das plantas-mães de *U. ruziziensis* tetraploide visando inferir sobre o modo de reprodução. Os sacos embrionários podem ser meióticos, apospóricos ou anormais. Indivíduos denotados em vermelho são considerados de modo de reprodução sexual pela análise citológica e/ou pelo marcador molecular ASGR-BBML. Entre parênteses nos eixos X e Y estão as proporções de diferença explicada por cada componente.

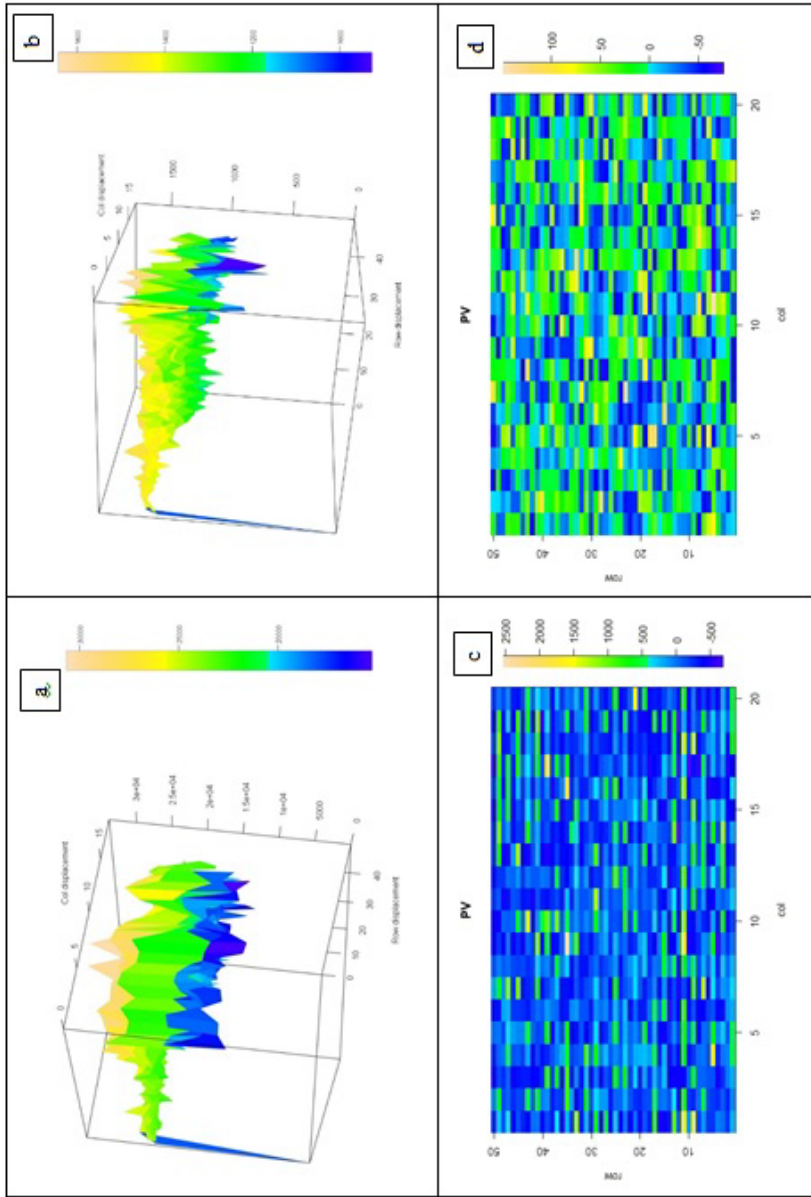
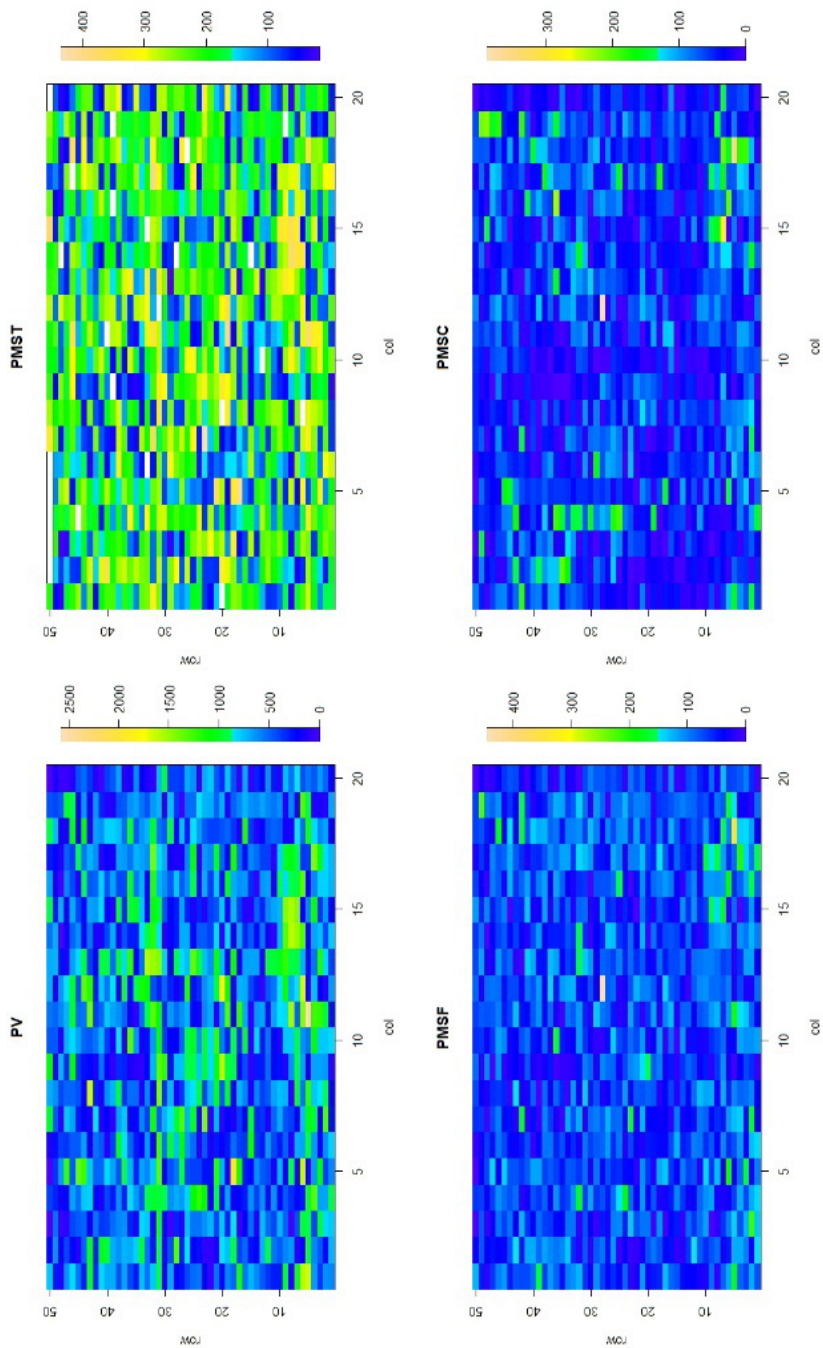


Figura 2. Variogramas tridimensionais para produção de matéria verde no período de déficit hídrico antes (a) e depois (b) da inclusão dos termos de controle local e tendência global no experimento. *Col* e *Row displacement* são as coordenadas de coluna e linha, respectivamente. As figuras (c) e (d) mostram a variação dos resíduos para a mesma característica, antes e depois dos termos de controle, respectivamente.

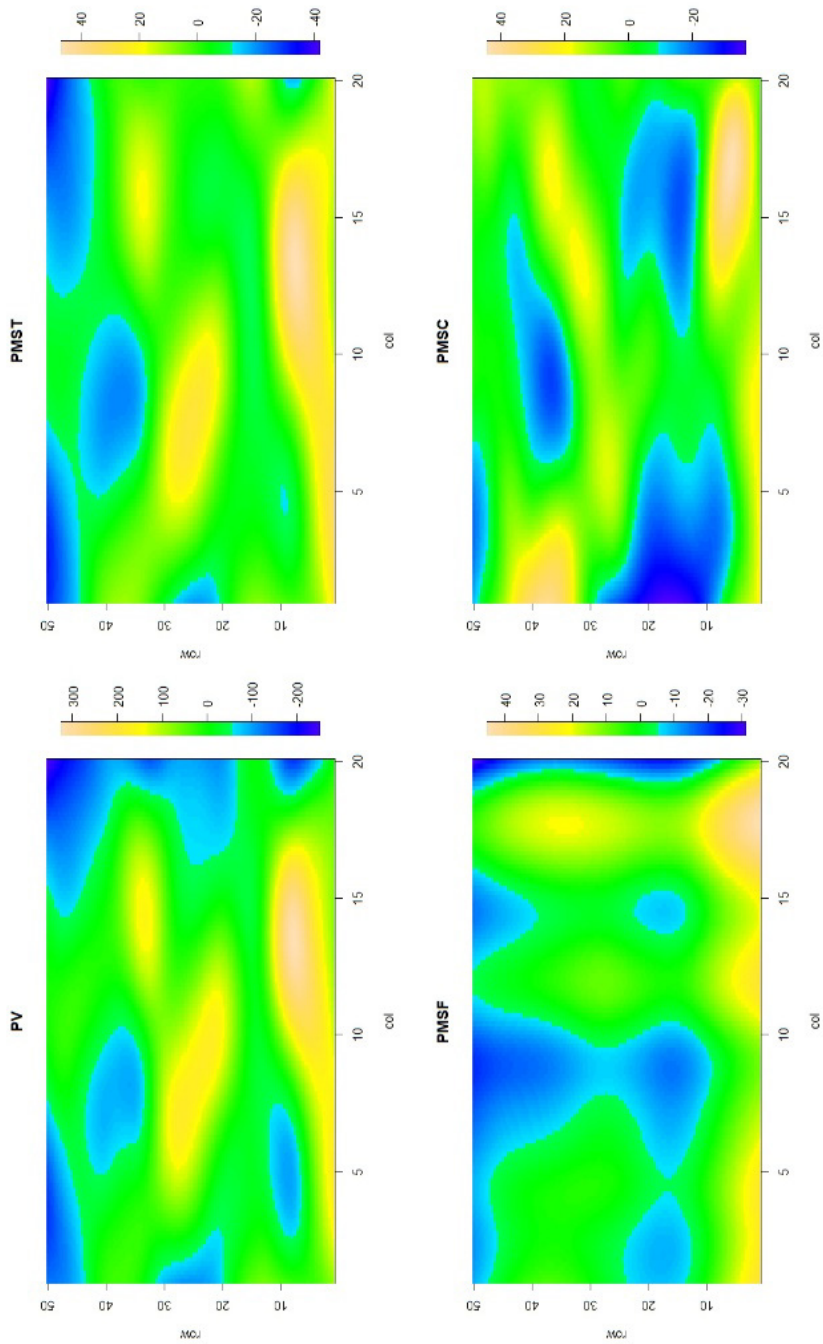
Tabela 1. Estimativas de parâmetros genéticos resultantes de análises fenotípicas de dados usando modelos lineares mistos para caracteres de produção forrageira em progênies de segunda geração de seleção intrapopulacional em *Urochloa ruziziensis*.

Característica	Regime hídrico (pluviosidade)	h_a^2	Repetibilidade	CV _{gi} %	σ_f^2	Média estimada por corte	Amplitude fenotípica	LRT*
Produção de matéria verde (t/ha)	Excesso	0,15	0,53	25,13	2464,81	7,58	0,66 – 19,6	**
Produção de matéria seca total (t/ha)	Excesso	0,11	0,43	22,36	145,54	1,80	0,17 – 3,95	**
Porcentagem matéria seca	Excesso	0,24	0,37	7,07	0,15	27	19 – 43	**
Rebrota (nota)	Excesso	0,21	0,64	13,35	0,70	3	1 – 5	**
Produção de matéria verde (t/ha)	Déficit	0,21	0,63	32,37	364,56	5,90	0,25 – 25,59	**
Produção de matéria seca total (t/ha)	Déficit	0,29	0,59	37,63	108,48	1,49	0,08 – 5,57	**
Porcentagem matéria seca	Déficit	0,05	0,28	3,35	0,13	23	10 – 46	ns
Rebrota (nota)	Déficit	0,07	0,20	7,64	0,77	2	2 – 5	ns
Produção de matéria seca foliar (t/ha)	Déficit	0,57	-	41,63	15,11	0,71	0,03 – 2,14	**
Produção de matéria seca de colmo (t/ha)	Déficit	0,07	-	19,82	15,23	0,53	0,01 – 2,64	ns

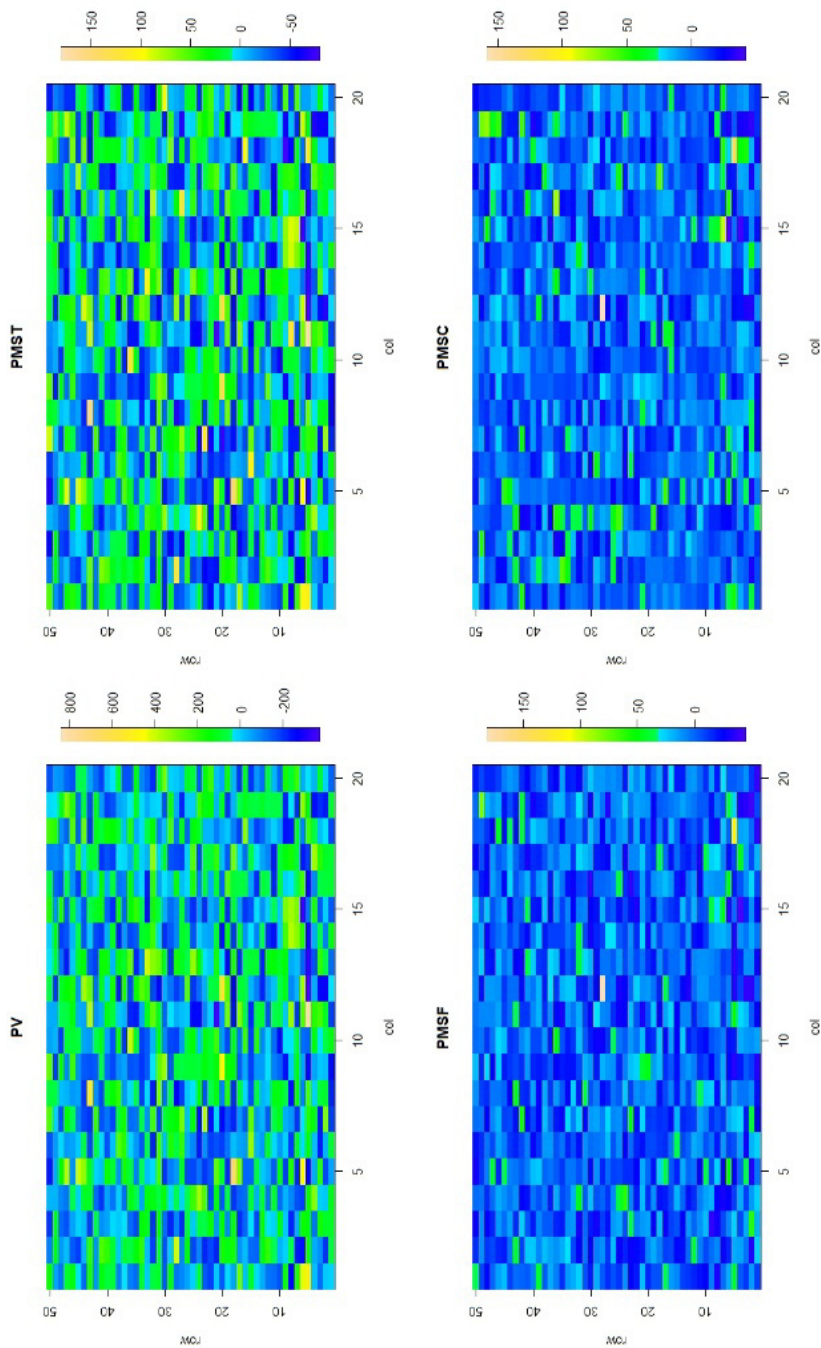
*. ** e ns – estatisticamente significativo teste de razão de verossimilhança para a variação genética entre progênies a 1% de probabilidade e não significativo, respectivamente. CV_{gi} – coeficiente de variação genética aditiva. h_a^2 – herdabilidade no sentido restrito. σ_f^2 – variação fenotípica



A) Dados brutos



B) Tendência espacial ajustada



C) Dispersão (plot) dos resíduos

Figura 3. Dados brutos, tendência espacial ajustada e resíduos espaciais em 50 linhas (row) e 20 colunas (col) para os dados experimentais do segundo ciclo de melhoramento de *U. ruziziensis* tetraploide, para produção de matéria verde (PV), produção de matéria seca total (PMST), foliar (PMSF) e de colmos (PMSC), individuais, para o período de déficit hídrico.

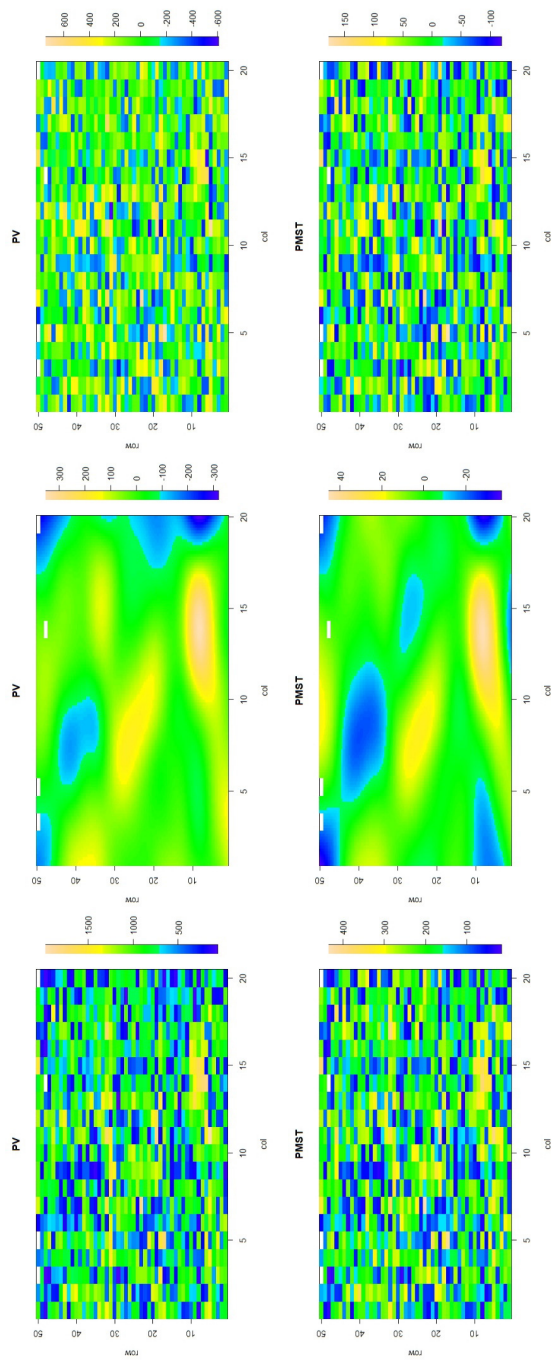


Figura 4. Dados brutos, tendência espacial ajustada e resíduos espaciais em 50 linhas (row) e 20 colunas (col) para os dados experimentais do segundo ciclo de melhoramento de *U. ruziziensis* tetraploide, para produção de matéria verde (PV) e produção de matéria seca total (PMST), individuais, para o período de excesso hídrico.

Tabela 2. Dimensões efetivas associadas à tendência espacial, aos fatores de linhas e colunas aleatórios, ao fator genético aleatório e aos resíduos. A letra u denota a posição linha, u a posição coluna e c_r e c_c os fatores aleatórios de linha e coluna, respectivamente. Os resultados são para os caracteres produção de matéria verde (PV) e seca (PMST) nos períodos de excesso e déficit hídrico e produção de matéria seca de folhas (PMSF) e colmos (PMSC) no período de déficit hídrico. As herdabilidades generalizadas são apresentadas (h_g^2).

	Déficit hídrico				Excesso hídrico			
	PV	PMST	PMSF	PMSC	PV	PMST		
Dimensões efetivas dos componentes espaciais (ED_k)	$f_u(u)$	1,6	1,9	3,5	4,7	1,7	1,0	
	$f_u(u)$	2,1	0,7	7,4	0,1	2,7	0,9	
	$uh(u)$	0,0	0,0	0,0	1,4	0,0	0,0	
	$uh_u(u)$	0,4	0,5	0,3	3,2	0,0	0,0	
	$f_{u,u}(u,u)$	22,7	14,9	3,6	27,8	24,4	15,9	
	c_r	26,6	20,0	6,4	9,2	24,5	18,3	
	c_c	7,2	7,9	0,0	14,0	1,5	1,0	
	Total	60,6	45,9	21,2	60,4	54,8	37,1	
ED_g		467,7	475,1	487,4	467,8	268,6	265,9	
h^2_g		0,47	0,48	0,49	0,47	0,27	0,27	
Número de observações		1000	1000	1000	1000	996	996	
Concordância (intensidade de seleção de 10%) (%)		69	73	77	57	59	58	
Correlação de Spearman entre os 100 primeiros selecionados (%)		61	73	65	60	49	49	

Referências

- ADAMS, J. R., de VRIES M. E., ZHENG, C., VAN EEUWIJK, F. A. Little heterosis found in diploid hybrid potato: the genetic underpinnings of a new hybrid crop. **Genes, Genomes and Genetics**, v. 12, jkac076. 2022.
- ANDRADE, M. H. M. L., FERNANDES-FILHO, C. C. F., FERNANDES, M. O., BASTOS, A. J. R., GUEDES, M. L., MARÇAL, T. S., GONÇALVES, F. M. A., PINTO, C. A. B. P., ZOTARELLI, L. Accounting for spatial trends to increase the selection efficiency in potato breeding. **Crop Science**, v. 60, p. 2354–2372. 2020.
- BARRIOS, S. C. L., VALLE, C. B., ALVES, G. F., SIMEAO, R. M., JANK, L. Reciprocal recurrent selection in the breeding of *Brachiaria decumbens*. **Tropical Grasslands**, v. 1, p. 52-54, 2013.
- CASTRO, W., MARCATO JR, J., POLIDORO, C., OSCO, L.P., GONÇALVES, W., RODRIGUES, L., SANTOS, M., JANK, L., BARRIOS, S., VALLE, C., SIMEÃO, R., CARROMEU, C., SILVEIRA, E., JORGE, L. A. D. C., MATSUBARA, E. Deep learning applied to phenotyping of biomass in forages with UAV-based RGB imagery. **Sensors**, v. 20, p. 4802. 2020.
- DIERCKX, P., 1993. **Curve and surface fitting with splines**. Clarendon Press, Oxford.
- FALCONER, D. S., MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. Longman, Harlow. 1996.
- FAO, 2006: **World reference base for soil resources 2006**. <ftp://ftp.-fao.org/agl/agll/docs/wsr103e.pdf>.
- FISHER, R. **The design of experiments**. New York: Macmillan Publishing Company. 1935.
- HAMMER, O., HARPER, D. A. T., RYAN, P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Paleontologia Electronica**, v. 4, 9p. 2001.
- JANK, L., BARRIOS, S. C., DO VALLE, C. B., SIMEÃO, R. M., ALVES, G. F. The value of improved pastures to Brazilian beef production. **Crop and Pasture Science**, v. 65, p. 1132-1137, 2014.
- LANDAU, E. C., SIMEÃO, R. M., MATOS-NETO, F. C. Evolução da área ocupada por pastagens. In: LANDAU, E. C. *et al.* (Eds), 2020. **Dinâmica da produção agropecuária e da paisagem natural no Brasil nas últimas décadas: produtos de origem animal e da silvicultura**, vol. 3, Brasília, DF: Embrapa, p. 1555-1578. 2020.
- LUTTS, S., NDIKUMANA, J., LOUANT, B. P. Fertility of *Brachiaria ruziziensis* in interspecific crosses with *Brachiaria decumbens* and *Brachiaria brizantha*: meiotic behaviour, pollen viability and seed set. **Euphytica**, v. 57, p. 267-274. 1991.
- MEDINA, C. A., KAUR, H., RAY, I., YU, L-X. Strategies to increase prediction accuracy in genomic selection of complex traits in alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Cells**, v. 10, n. 3372. 2021.
- MILES, J. W., MAASS, B. L., VALLE, C. B. **Brachiaria: biology, agronomy, and improvement**. Cali, Colômbia: CIAT, Campo Grande, Brasil: Embrapa Gado de Corte, 1996. 288 p.
- MILES, J. W., ESCANDÓN, M. L. Further evidence on the inheritance of reproductive mode in *Brachiaria*. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 77, p. 105-107. 1996.
- NGENDAHAYO, M., COPPENS D'EECKENBRUGGE, G., LOUANT, B.-P. Self-incompatibility studies in *Brachiaria ruziziensis* Germain et Evrard, *Brachiaria decumbens* Stapf and *Brachiaria brizantha* (Hochst) Stapf and their interspecific hybrids. **Phytomorphology**, v. 38, p. 47–51. 1988.

Oakey, H., Verbyla, A., Pitchford, W., Cullis, B., Kuchel, H. Joint modeling of additive and non-additive genetic line effects in single field trials. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 113, p. 809–819. 2006.

Ozias-Akins, P., DiJK, P. J. V. Mendelian genetics of apomixis in plants. **Annual Review of Genetics**, v. 41, p. 509–37. 2007.

Pérez-Valencia, D.M., Rodríguez-Álvarez, M.X., Boer, M.P., Kronenberg, L., Hund, A., Cabrera-Bosquet, L., Millet, E. J., Van Eeuwijk, F. A. A two-stage approach for the spatio-temporal analysis of high-throughput phenotyping data. **Scientific Report**, v. 12, n. 3177. 2022.

Piepho, H-P., Boer, M. P., Williams, E. R. Two-dimensional P-spline smoothing for spatial analysis of plant breeding trials. **Biometrical Journal**, v. 64, p. 835–857. 2022.

Qiao, C. G., Basford, K. E., Delacy, I. H., Cooper, M. Evaluation of experimental designs and spatial analyses in wheat breeding trials. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 100, p. 9–16. 2000.

R Core Team. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2022. <https://www.R-project.org>

Ragalzi, C. M., Mendes, A. B. D., Simeão, R. M., Verzignassi, J. R., Valle, C. B., Machado, M. F. P. S. Microsporogenesis associated with seed yield in *Urochloa* sexual polyploid hybrids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 21, 337652148. 2021.

Raposo, A., Valle, C. B., Jank, L., Ratier, S., Barrios, S. C. L., Santos, M. F. Determinação do modo de reprodução em *Brachiaria* spp. e *Panicum maximum* usando microscopia por contraste de interferência em ovários clarificados. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2019. 34 p. (Documentos 267. Embrapa Gado de Corte).

Resende, M. D. V. Software Selegen – REML/BLUP: a useful tool for plant breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 16, p. 330–339. 2016.

Resende, R. M. S.; Valle, C. B. do; Alves, G. F.; Moreira, D. A. L.; Silva, D. R. da; Araújo, D. de F.; Ferreira, R. C. U.; Barrios, S. C. L.; Jank, L.; Caramalac, G. R.; Naka, I. M.; Calixto, S.; Carvalho, J. de. Melhoramento de *Brachiaria ruziziensis* tetraploide sexual na Embrapa: métodos e avanços. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2012. (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 194).

Reutemann, A. V., Honfi, A. I., Karunarathne, P., Eckers, F., Hojsgaard, D. H., Martínez, E. J. Variation of residual sexuality rates along reproductive development in apomictic tetraploids of *Paspalum*. **Plants**, v. 11, n. 1639. 2022.

Rodríguez-Álvarez, M. X., Boer, M. P., Van Eeuwijk, F. A., Eilers, P. H. C. Correcting for spatial heterogeneity in plant breeding experiments with P-splines. **Spatial Statistics**, v. 23, p. 52–71. 2018.

Simeão, R. M., Valle, C. B., Vilela Resende, M. D. Unravelling the inheritance, QST and reproductive phenology attributes of the tetraploid tropical grass *Brachiaria ruziziensis* (Germain et Evrard). **Plant Breeding**, v. 136, p. 101–110. 2017.

Simeão, R., Silva, A., Valle, C., Resende, M. D. Genetic evaluation and selection index in tetraploid *Brachiaria ruziziensis*. **Plant Breeding**, v. 135, p. 246–253. 2016.

Swenne, A., Louant, B. P., DuJardin, M. Induction par la colchicine de formes autotétraploïdes chez *Brachiaria ruziziensis* Germain et Evrard (Graminee). **Agronomie Tropicale**, v. 36, p.134—141. 1981.

VAN EEUWIJK, F. A., BUSTOS-KORTS, D., MILLET, E. J., BOER, M. P., KRUIJER, W., THOMPSON, A., MALOSETTI, M., IWATA, H., QUIROZ, R., KUPPE, C., MULLER, O., BLAZAKIS, K. N., YU, K., TARDIEU, F., CHAPMAN, S. C. Modelling strategies for assessing and increasing the effectiveness of new phenotyping techniques in plant breeding. **Plant Science**, v. 282, p. 23–39. 2019.

VELAZCO, J. G., RODRIGUEZ-ALVAREZ, M. X., BOER, M. P., JORDAN, D. R., EILERS, P. H. C., MALOSETTI, M., VAN EEUWIJK, F. A. Modelling spatial trends in sorghum breeding field trials using a two-dimensional P-spline mixed model. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 130, p. 1375–1392. 2017.

WORTHINGTON, M. L.; HEFFELFINGER, C.; BERNAL, D.; QUINTERO, C.; ZAPATA, Y. P.; PEREZ, J. G.; VEGA, J.; MILES, J. W.; DELLAPORTA, S.; TOHME, J. A parthenogenesis gene candidate and evidence for segmental allopolyploidy in apomictic *Brachiaria decumbens*. **Genetics**, v. 203, p. 1117-1132. 2016.

YOUNG, B. A., SHERWOOD, R. T., BASHAW, E. C. Cleared-pistil and thick-sectioning techniques for detecting aposporous apomixis in grasses. **Canadian Journal of Botany**, v. 57, p. 1668–1672. 1979.



Gado de Corte



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO

