

**UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO PROGRAMA DE PÓS-  
GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* DOUTORADO EM CIÊNCIAS  
AMBIENTAIS E SUSTENTABILIDADE AGROPECUÁRIA**

**Melhoramento Genético de *Brachiaria ruziziensis* Tetraploide  
Sexual Visando à Sustentabilidade Agropecuária**

Autora: Adriane Schio Silva

Orientadora: Dra. Cacilda Borges do Valle

Coorientadora: Dra. Rosangela Maria Simeão

CAMPO GRANDE / MS

2015

UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* DOUTORADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SUSTENTABILIDADE AGROPECUÁRIA

Melhoramento Genético de *Brachiaria ruziziensis* Tetraploide Sexual Visando à Sustentabilidade Agropecuária

Autora: Adriane Schio Silva

Orientadora: Dra. Cacilda Borges do Valle

Coorientadora: Dra. Rosangela Maria Simeão

"Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de DOUTORA EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SUSTENTABILIDADE AGROPECUÁRIA, no Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária da Universidade Católica Dom Bosco - Área de concentração: "Sustentabilidade Ambiental e Produtiva Aplicada ao Agronegócio e Produção Sustentável"

Campo Grande

Mato Grosso do Sul

Dezembro – 2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Biblioteca da Universidade Católica Dom Bosco – UCDB, Campo Grande, MS, Brasil)

S586m Silva, Adriane Schio

Melhoramento genético de *Brachiaria ruziziensis* tetraploide sexual visando à sustentabilidade agropecuária / Adriane Schio Silva; orientação Cacilda Borges do Valle; coorientadora Rosangela Maria Simeão. 2015  
89 f.

Tese (doutorado em ciências ambientais e sustentabilidade agropecuária) – Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, 2015.  
Inclui bibliografia

1. Plantas forrageiras 2. Capim *Brachiaria* – Melhoramento genético I. Valle, Cacilda Borges do II. Simeão, Rosangela Maria III. Título

CDD – 633.2

**Melhoramento genético de *Brachiaria ruziziensis* Tetraploide Sexual Visando a Sustentabilidade Agropecuária**


**Autor:** Adriane Schio Silva

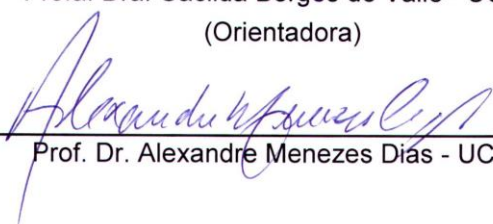
**Orientador (a):** Profa. Dra. Cacilda Borges de Valle

**Coorientador (a):** Profa. Dra. Rosangela Maria Simeão

**TITULAÇÃO:** Doutor em Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária  
Área de concentração: Sustentabilidade Ambiental e Produtiva.


APROVADA em 07 de dezembro de 2015.

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Cacilda Borges do Valle - UCDB  
(Orientadora)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Alexandre Menezes Dias - UCDB

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Rodrigo Gonçalves Mateus - UCDB

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ademir Kleber Morbeck de Oliveira - UNIDERP

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Sanzio Carvalho Lima Barrios - EMBRAPA

“Não existem sonhos impossíveis para aqueles que realmente acreditam que o poder realizador reside no interior de cada ser humano, sempre que alguém descobre esse poder, algo antes considerado impossível se torna realidade.”

(Albert Einstein)

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu marido Roberval, pelo grande amor, paciência, e por ter me incentivado a lutar por meus objetivos.

Aos meus filhos, Rafael e Rodrigo, que são a razão de todos os meus esforços, que, com carinho e paciência, entenderam a minha ausência em muitos momentos no decorrer deste trabalho.

Amo vocês.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado muita força, coragem e persistência.

Especialmente ao meu marido Roberval e aos meus filhos Rafael e Rodrigo, pelo amor e paciência. Aos meus pais, Vандir e Inês, e a toda minha família, que apesar do desgaste sofrido pelas incertezas, adversidades e cobranças deste caminho, sempre estiveram ao meu lado.

À Universidade Católica Dom Bosco pela oportunidade de ampliar meus conhecimentos.

À Embrapa Gado de Corte pela oportunidade de realizar esta pesquisa.

Ao Sr. Silvano Calixto e aos funcionários da UNIPASTO pelo apoio na execução dos trabalhos de campo.

À equipe da Embrapa Gado de Corte: À Dra. Cacilda Borges do Valle pelo apoio, discernimento e orientação. À Dra. Rosangela Maria Simeão pela orientação, dedicação e persistência em auxiliar-me a concluir este trabalho, mesmo com todos os percalços de sua vida particular. Ao Dr. Sanzio Carvalho Lima Barrios pela força e prontidão em que me atendia para trocar ideias sobre os experimentos e sobre as análises dos mesmos. Ao Dr. Valdemir Antonio Laura, pelo apoio e disponibilidade.

À Dra. Liana Jank, pelo incentivo para concluir esta pesquisa. À Dra. Lucimara Chiari e aos estagiários Celina, Renato e Ariane pelo apoio na fase inicial dos trabalhos. Aos técnicos e responsáveis pelos laboratórios, em especial, Sandra (Laboratório de Citogenética) pelo auxílio e convívio agradável.

Ao Sr. Josias de Carvalho e à sua equipe pela responsabilidade e empenho nos trabalhos em campo, sem os quais não seria possível esta pesquisa e, ainda, pelo seu bom humor, bom convívio e amizade. A toda equipe do pavilhão de apoio da Embrapa, pelo auxílio na pesagem, separação e secagem do material de campo. Aos colegas mestrandos e doutorandos que, junto comigo, desenvolviam suas pesquisas na Embrapa, principalmente Ulisses e Rogério, pela amizade e apoio.

Aos coordenadores e aos professores deste Programa de Doutorado da UCDB, em especial à Dra. Marney Pascoli Cereda, Dr. Olivier François Vilpoux, Dr. Luís Carlos Vinhas Ítavo, Dr. Alexandre Menezes Dias, Dr. Hemerson Pistori, Dr. Luís Caldas, Dra. Antonia Railda Roel e Dra. Carina Elisei de Oliveira. À Dra. Carina pela grandiosidade de espírito, preocupação, disponibilidade e amizade. Aos colegas de turma, mestrandos e doutorandos, em especial, Cida, pela amizade e companheirismo.

Ao Comando do Colégio Militar de Campo Grande (CMCG) e a todos os integrantes da família Garança pelo apoio. Em especial, aos meus queridos colegas da Seção de Ensino “F” e aos meus chefes imediatos, pelo incentivo e companheirismo. À coordenadora e aos meus colegas, professores de Biologia, pela amizade e parceria nas aulas, principalmente ao Prof. Ailton, pelo companheirismo.

E a todos que, de uma forma ou outra, colaboraram, agradeço de coração.



## BIOGRAFIA

Adriane Schio Silva, nascida em Santo Augusto, no Estado do Rio Grande do Sul, no dia 17 de novembro de 1971, é filha de Vandir José Schio e Inês Stival Schio. Formou-se em Ciências Biológicas no ano 1993, pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul; concluiu o curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* em nível de Especialização em Biologia no ano 1998, pela Universidade Salgado de Oliveira e o curso de Pós-Graduação *Strito Sensu*, em nível de Mestrado em Biologia Vegetal, em 2006, pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Ingressou no Programa de Pós-Graduação *Strito Sensu* em Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária em nível de Doutorado da Universidade Católica Dom Bosco, com Área de Concentração: “Sustentabilidade Ambiental e Produtiva Aplicada ao Agronegócio e Produção Sustentável”, na primeira turma, em 2012.

A autora deste trabalho é professora do Ensino Básico Técnico e Tecnológico, na área de Biologia e Ciências Físicas e Biológicas, com dedicação exclusiva, no Colégio Militar de Campo Grande, onde leciona desde 1998. Já atuou como coordenadora da equipe de professores, desenvolveu projetos e orientou alunos em iniciação científica júnior.

## SUMÁRIO

	PÁGINA
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS.....	3
Objetivo geral.....	3
Objetivos específicos.....	3
ORGANIZAÇÃO DA TESE.....	4
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
1. O capim <i>Brachiaria</i> .....	6
2. <i>Brachiaria ruziziensis</i> Germain & Evrard.....	7
3. O melhoramento genético de <i>Brachiaria</i> .....	9
3.1 Modo de reprodução.....	10
3.2 Programa de melhoramento de <i>Brachiaria</i> na Embrapa.....	11
4. Estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos em forrageiras tropicais .....	14
5. Ganhos com Seleção.....	16
6. Métodos de Seleção.....	18
7. Índices de seleção.....	19
8. Valor nutricional das forrageiras tropicais.....	20
9. Cigarrinhas das pastagens.....	22
10. Fenologia do florescimento.....	23
Referências bibliográficas.....	26
TRABALHOS CIENTÍFICOS.....	34

CAPÍTULO 1 Genetic evaluation and selection index in tetraploid <i>Brachiaria ruziziensis</i> .....	34
Abstract .....	35
Abbreviations .....	36
Introduction .....	37
Material and Methods.....	40
Plant material and phenotypic evaluation.....	40
Statistical Methods .....	42
Results and Discussion.....	46
Acknowledgments .....	54
References .....	54
CAPÍTULO 2 Flowering traits in tetraploid <i>Brachiaria ruziziensis</i> breeding .....	66
Abstract .....	67
Introduction .....	67
Material and Methods.....	69
Progenies and phenotypic evaluation.....	69
Statistical methods.....	70
Results and Discussion.....	71
Acknowledgements.....	75
Caracteres associados ao florescimento no melhoramento de <i>Brachiaria ruziziensis</i> tetraploide.....	76
Resumo.....	76
References.....	76
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	84

## LISTA DE TABELAS

<b>CAPÍTULO 1</b>	Página
<b>Tabela 1.</b> Estimate of genetic parameters as a result of linear mixed models analyses of phenotypic data used for selection of individuals in <i>B. ruziziensis</i> progenies.....	60
<b>Tabela 2.</b> Genetic correlations amongst green matter yield (GM), total dry matter yield (TDMY), leaf dry matter yield (LDMY), stems dry matter yield (SDMY) and regrowth evaluated during wet and dry seasons in <i>B. ruziziensis</i> progenies. ....	62
<b>Tabela 3.</b> Genetic correlations amongst green matter (GM), total dry matter (TDMY), foliar dry matter (LDMY), stem dry matter (SDMY), regrowth, crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), <i>in vitro</i> digestibility (IVOMD), lignin (S and P), cellulose and silica, evaluated in <i>B. ruziziensis</i> progenies on an annual basis.....	63
<b>Tabela 4.</b> Effect of different multiplicative selection indexes in terms of relative response and mean of selected <i>B. ruziziensis</i> progenies, considering directly measured total dry matter yield (TDMY), regrowth and crude protein and indirectly measured leaf dry matter yield (LDMY), when evaluated during wet and dry seasons and in an annual basis.....	64
<b>CAPÍTULO 2</b>	
<b>Tabela 1.</b> Mean genetic values in individuals for the traits crude protein content (CP), neutral detergent fiber (NDF), total dry matter yield (TDMY) and total number of panicles per flowering distribution group in open pollination progenies of <i>B. ruziziensis</i> .....	81
<b>Tabela 2.</b> Estimates of genetic parameters resulting from analyses by mixed linear models of phenotypic data associated with the phenology of flowering (number of ears per raceme - NER, mode of insertion of ears – IES, color of stigma – CEST, color of anther – CANT, number of days to flowering - DTF and number of panicles per plant – NPP), nutritional quality and agronomic traits for forage yield in progenies of <i>B. ruziziensis</i> .....	82
<b>Tabela 3.</b> Phenotypic (upper diagonal) and genetic (lower diagonal) correlation among traits associated with flowering phenology, nutritional value and yield evaluated in progenies of tetraploid <i>B. ruziziensis</i> .....	83

## LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1	Página
<b>Figura 1.</b> Graphic representation of total dry matter yield (TDMY), in the wet and the dry season, of selected individual using five multiplicative selection indexes.....	65
CAPÍTULO 2	
<b>Figura 1.</b> Flowering distribution of <i>B. ruzizensis</i> progenies.....	80

## LISTA DE ABREVIATURAS

BLUP	Best linear unbiased predictor	Melhor preditor linear imparcial
REML	Restricted maximum likelihood	Máxima verossimilhança restrita
GM	Green matter	Matéria verde
TDMY	Total dry matter yield	Produção de matéria seca total
LDMY	Leaf dry matter yield	Produção de matéria seca foliar
SDMY	Stems dry matter yield	Produção de matéria seca de colmo
CP	Crude protein	Proteína bruta
NIRS	Near infrared spectroscopy	Espectroscopia no infravermelho próximo
NDF	Neutral detergent fiber	Fibra em detergente neutro
ADF	Acid detergent fiber	Fibra em detergente ácido
Lig	Lignin	Lignina
IVOMD	<i>In vitro</i> organic matter digestibility	Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica
Sil	Silica	Sílica
PEV	Prediction error variance	Previsão da variância do erro
LRT	Likelihood ratio test	Teste da razão de verossimilhança
PTPDR	Production of total digestible protein in the regrowth	Produção de proteína total digestível na rebrota
CMCG	Colégio Militar de Campo Grande	
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária	
UNIPASTO	Associação para o Fomento à Pesquisa de Melhoramento de Forrageiras	

## RESUMO

O melhoramento de forrageiras contribui para a sustentabilidade do planeta por proporcionar maior produtividade por área e eficiência na produção de proteína animal. Isso auxilia na alimentação da população humana, que encontra-se em crescimento acelerado, e ainda, contribui para a diminuição de gases de efeito estufa. Além disso, proporciona o crescente desenvolvimento da pecuária brasileira e da comercialização de sementes. O melhoramento de forrageiras tropicais iniciou no Brasil, na década de 1980, com o objetivo de diversificar as pastagens no Brasil Central com novas cultivares melhoradas que apresentem diferenciais qualitativos e/ou quantitativos em relação às cultivares disponíveis. Objetivou-se com esta pesquisa promover o melhoramento genético em *Brachiaria ruziziensis*, sexual e tetraploide, por meio de seleção recorrente intrapopulacional, com o propósito de identificar genitores de alta produtividade e valor nutritivo para realizar cruzamentos interespecíficos com *Brachiaria brizantha* e *B. decumbens*, ambas tetraploide apomíticas. Foram avaliadas, em um teste de progênies, 59 progênies de meios-irmãos de *B. ruziziensis*. O experimento foi delineado em blocos ao acaso, com 20 repetições e uma planta na parcela, espaçadas em 1,5 m x 1,5 m. Foram realizados nove cortes, sendo 3 deles na estação seca. Foram analisados os caracteres agrônômicos: matéria verde, matéria seca (MS) total, de folha, de colmo e material morto. Também foram submetidas amostras às análises por Espectrometria de Infravermelho Próximo (NIRS) para a determinação das variáveis nutricionais: teor de matéria orgânica (MO), teor de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO), teor de lignina via ácido sulfúrico (LigS), teor de lignina via permanganato (LigP), celulose (Cel) e sílica (S). Utilizou-se para as análises estatísticas o software SELEGEN. Como resultados obteve-se que progênies de *B. ruziziensis* apresentaram alta porcentagem de proteína bruta e digestibilidade, baixa concentração de FDN e lignina S. Para todas as características, com exceção de FDN e DIVMO, a variância genética foi significativamente maior do que zero ( $P < 0,01$ ) com base no teste de razão de verossimilhança. As herdabilidades no sentido restrito, corrigidas para endogamia, variaram de 0,14 a 0,91 para os caracteres agrônômicos e de 0,04 a 0,24 para os caracteres de valor nutritivo. Características de valor nutricional apresentaram menor magnitude de variação, com valores abaixo de 16% para esses parâmetros. Todos os caracteres agrônômicos apresentaram coeficiente de variação genética maior que 40%, o que significa maior variação genética disponível na seleção para rendimento de biomassa do que para valor nutricional. A acurácia na seleção para caracteres agrônômicos foi de elevada

magnitude ( $>0,85$ ). Houve coincidência de cerca de 60% dos melhores indivíduos em todos os cortes. Correlações genéticas de elevadas magnitudes foram obtidas entre matéria verde, produção de MS total, produção de MS de folha e rebrota avaliados nos períodos de estação chuvosa e seca. Todos os componentes de biomassa correlacionaram-se negativamente com o conteúdo de PB proteína bruta, com as proporções de FDA, lignina (P e S) e sílica, e positivamente com DIVMO e celulose. A contribuição da *B. ruziziensis* na obtenção de híbridos com maior teor de proteínas no melhoramento de espécies do gênero *Brachiaria* é primordial. Foram realizadas também, análises de fenologia do florescimento. Indivíduos de florescimento esparso foram os mais frequentes. O período de florescimento foi de 63 dias. Indivíduos com florescimento esparso tiveram valores genéticos para produção total de matéria seca e número total de panículas de maior magnitude do que indivíduos com florescimento precoce ou tardio. Constatou-se sincronia de florescimento entre genótipos de interesse. Foi possível identificar e selecionar genótipos superiores para ganhos de produção ao mesmo tempo, durante as estações secas e úmidas, nas progênies analisadas de *B. ruziziensis*. Índices combinando vários caracteres bem como os parâmetros genéticos estimados devem ser considerados na seleção de parentais para continuar o programa de melhoramento.

**PALAVRAS CHAVE:** forrageiras; parâmetros genéticos; REML-BLUP; repetibilidade.



## ABSTRACT

Forage breeding contributes to the sustainability of the planet through greater productivity and efficiency in the production of animal protein per area. This aids in feeding the human population, which is in rapid growth, and contributes to the reduction of greenhouse gases emissions. In addition, it promotes the Brazilian livestock development and the forage seed industry. Tropical forage breeding began in Brazil in the late 1980s, with the objective of diversifying pastures in Central Brazil with new improved cultivars that had qualitative and/or quantitative advantages over the available cultivars. The aim of this research was to promote the genetic improvement of *Brachiaria ruziziensis*, sexual and tetraploid, through recurrent intrapopulation selection, in order to identify genotypes of high productivity and nutritional value to perform interspecific crosses with *Brachiaria brizantha* and *B. decumbens*, both tetraploid apomictics. A progeny test involving 59 families of half sibs of *B. ruziziensis* was evaluated. The experiment was designed in randomized blocks with 20 replications and one plant in the plot, spaced 1.5 m x 1.5 m. Nine cuts were made, of which three were done in the dry season. The agronomic traits evaluated were: green matter, total dry matter, leaf, stem and dead matter. Samples were also subjected to analysis by near infrared spectrometry (NIRS) to determine the following nutritional components: organic matter (OM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) in vitro organic matter digestibility (IVOMD), lignin content via sulfuric acid (LigS), lignin content via permanganate (LigP), cellulose (Cel) and silica (S). Furthermore, the phenology of flowering was examined. The SELEGEN software was used for statistical analysis. Results indicated that the progeny of *B. ruziziensis* showed high percentage of crude protein and digestibility, low concentration of NDF and lignin S. The traits evaluated showed a high magnitude of genetic variation. For all traits, except for NDF and IVOMD, genetic variance was significantly greater than zero ( $P < 0.01$ ) based on the likelihood ratio test. The narrow sense heritability adjusted for inbreeding, ranged from 0.14 to 0.91 for the agronomic traits and 0.04 to 0.24 for the traits of nutritional value. The coefficients of genetic variation between individuals ( $CV_{gi}$ ) and progenies ( $CV_{gp}$ ) were of high magnitude among traits, especially for leaf and stem dry matter yield during the dry and wet seasons, regrowth during wet seasons, but the smallest value was for regrowth during the dry season ( $CV_{gp}$  of 7.56). Nutritional quality traits showed the smallest magnitude (below 16%) for these parameters. Agronomic traits in general presented greater genetic variation (>40%), meaning higher genetic variation available for selection for biomass yield than for nutritional quality. The accuracy in the selection for agronomic traits was of high magnitude (> 85%). There was a

coincidence of about 60% of the best individuals for all cuts. Genetic correlations of high magnitude were obtained between fresh matter, total dry matter, leaf dry matter production and regrowth during the wet and dry season. All biomass components were negatively correlated with the content of crude protein, FDA proportions, lignin (P and S), silica, and positively with IVOMD and cellulose. The *B. ruziziensis* contribution to produce hybrids with higher protein content in the improvement of *Brachiaria* species is paramount. Analyses of flowering phenology were also carried out. Genotypes with sparse flowering were the most frequent. The flowering period was of 63 days. Genotypes of sparse flowering had genetic values for total dry matter production and number of panicles of higher magnitude compared to early or late flowering genotypes. There was synchrony in flowering among promising genotypes. It was possible to identify and select superior genotypes for genetic gain in biomass production during both dry and wet season among the progenies of *B. ruziziensis*. Indexes combining several traits as well the estimated genetic parameters should be considered for the selection of parental material to continue the program.

**KEYWORDS:** forage; genetic parameters; REML-BLUP; repeatability.

## INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se como o maior exportador mundial de carne bovina, com o diferencial de que produz o chamado “boi de capim” (Valle et al. 2009). A alimentação bovina por meio de gramíneas forrageiras propicia segurança alimentar e busca garantir o bem-estar animal, qualidades que trazem crédito ao Brasil como produtor de carne.

As forrageiras, quando consumidas pelos animais, são transformadas em proteína de grande valor nutricional para o homem e estão diretamente ligadas à produtividade. Entretanto, para que a produtividade aumente, se faz necessária a contínua melhoria das pastagens, superando diversos desafios, inclusive o das mudanças climáticas. Em função disso, programas de melhoramento genético de braquiária visam gerar cultivares que permitam garantir a produtividade dos rebanhos. Para que isto ocorra, os melhoristas procuram desenvolver cultivares que reúnam as melhores características das diferentes espécies, como o bom valor nutricional da *Brachiaria ruziziensis*, a resistência às cigarrinhas das pastagens presentes na *B. brizantha* e a adaptabilidade aos solos ácidos e pobres da *B. decumbens* (Valle et al. 2008).

No entanto, cruzamentos entre espécies diferentes nem sempre são possíveis, devido às diferenças no número de cromossomos, que podem determinar a inviabilidade do híbrido, ou às características do modo de reprodução, apomítico ou sexual (Valle and Savidan 1996, Valle et al. 2008).

A maioria das braquiárias são apomíticas, ou seja, possuem reprodução assexuada por meio de sementes, não cruzam entre si. Na apomixia, o embrião da semente não é fecundado e é, portanto, um clone da planta-mãe (Valle et al. 2008, Worthington and Miles 2015).

Apesar da maioria dos genótipos disponíveis serem apomíticos, existem algumas plantas sexuais e tetraploides, como é o caso da *B. ruziziensis*, que teve seus cromossomos duplicados artificialmente (Swenne et al. 1981). Essas são selecionadas a fim de serem utilizadas em cruzamentos com as plantas apomíticas e

tetraploides de interesse, pois apresentam elevado valor nutricional e altas taxas de matéria seca e proteína bruta, com baixo teor de fibra em detergente neutro, portanto, apresentam grande potencial para utilização em pastagens e sistemas integrados de produção (Souza Sobrinho 2005, Souza Sobrinho et al. 2010).

Desta forma, foi proposto como estratégia para o melhoramento, a seleção recorrente intrapopulacional em *B. ruzizensis*, que consiste em ciclos, de quatro fases: obtenção de progênies, seguida por avaliação, seleção e recombinação (Comstock et al. 1949).

Essa pesquisa, além de promover o melhoramento intrapopulacional da população sexual, busca, também, selecionar os melhores genótipos de *B. ruzizensis*, que entrarão novamente no ciclo de cruzamentos com as braquiárias apomíticas, para a obtenção de novos híbridos, candidatos a cultivares.

## OBJETIVOS

### Objetivo geral

Promover o melhoramento genético intrapopulacional em *Brachiaria ruziziensis*.

### Objetivos específicos

1- Avaliar experimentalmente as progênies da primeira geração de seleção na população sexual de melhoramento de *B. ruziziensis*;

2- Analisar a variabilidade intrapopulacional das progênies de meios-irmãos sexuais, com vistas a estimar componentes genéticos, fenotípicos e ambientais para os caracteres de valor agrônômico;

3- Avaliar as características químicas das folhas como subsídio à seleção de genitores de maior valor nutritivo para ruminantes;

4- Selecionar genitores e indivíduos das progênies na população sexual avaliada experimentalmente, com base em seus valores genéticos preditos para os caracteres de valor agrônômico e com base em índices de seleção;

5- Analisar a fenologia do florescimento dos indivíduos selecionados no teste de progênies de *B. ruziziensis*.

## ORGANIZAÇÃO DA TESE

Esta tese está dividida em duas partes: revisão bibliográfica e artigos.

Na primeira parte, que corresponde à revisão bibliográfica, discute-se o melhoramento genético de *Brachiaria*, a importância do melhoramento de *B. ruziziensis*, bem como os métodos e caracteres relacionados ao melhoramento de forrageiras, os ganhos genéticos e índices de seleção, além da fenologia do florescimento e suas implicações.

A segunda parte da tese foi dividida em capítulos, correspondentes a dois artigos elaborados e já submetidos a periódicos científicos. No capítulo 1, discutiu-se o melhoramento genético e os índices de seleção em *Brachiaria ruziziensis* tetraploide sexual, a partir de experimento realizado na Embrapa Gado de Corte, com 1180 progênies. No capítulo 2, foram apresentados e analisados os caracteres de florescimento de *Brachiaria ruziziensis* tetraploide sexual e sua importância no melhoramento do gênero *Brachiaria*. Essa pesquisa foi realizada no mesmo local e com as mesmas progênies da pesquisa do capítulo 1.

Conforme normas do programa de pós-graduação as referências seguiram as normas dos periódicos para os quais os artigos foram submetidos. No caso, as referências bibliográficas do corpo da tese (revisão bibliográfica) e do Cap 2 seguiram as normas da revista CBAB (Crop Breeding and Applied Biotechnology). O Cap 1, seguiu as normas da revista Euphytica. Ambas as normas seguem no final da tese.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O crescimento acelerado da população mundial, atualmente com 7,2 bilhões de pessoas, traz consigo muitas preocupações no que se refere à alimentação, pois as previsões para 2030 e 2050 são, respectivamente, de 8,5 (ONUBR 2013) e 9,7 bilhões de pessoas, sendo que em 2100 esse número deverá ultrapassar os 11 bilhões (ONUBR 2015).

O grande desafio mundial é alimentar toda essa população, contando-se com a quantidade de terras agricultáveis disponíveis do planeta (World Bank 2011). A solução mais plausível, então, é promover o aumento da produtividade. Para isto, é necessário uma agropecuária composta por plantas mais produtivas, mais tolerantes ao clima e resistente às pragas e às doenças, o que é possível pelos métodos de melhoramento genético.

O Brasil é um importante *Player* no mercado mundial como produtor e exportador de carne bovina (Dias-Filho 2014) com uma grande vantagem competitiva, que é a produção feita sob pastejo. As projeções para a exportação, num período de 10 anos, indicam um aumento de 37,4%, ou seja, de 2.099 mil toneladas para 2.883 mil toneladas, segundo projeções do agronegócio (MAPA 2015). As pastagens cultivadas representam um importante papel na alimentação do rebanho bovino brasileiro, representado em 2011, por 213 milhões de cabeças de gado (IBGE 2015), o equivalente a 15% do rebanho bovino mundial (FAOSTAT 2011).

A área ocupada por pastagens cultivadas é de 102 milhões de hectares (IBGE 2015), o que torna o melhoramento de plantas forrageiras uma atividade extremamente importante.

Dentre as espécies forrageiras cultivadas destacam-se as do gênero *Brachiaria*, devido, principalmente, à boa adaptação às condições de solos ácidos e pobres, predominantes no Brasil Central pecuário, à alta produtividade e ao elevado

valor nutritivo da forragem, além da resistência aos fatores bióticos e abióticos (Valle et al. 2008, Figueiredo 2011).

## 1. O capim *Brachiaria*

Na classificação botânica, *Brachiaria* é um gênero da família *Poaceae* (*Gramineae*), tribo *Paniceae*, abrangendo cerca de 100 espécies (Valle et al. 2010), e tem sua distribuição nas regiões tropicais de ambos os hemisférios do globo, ocorrendo principalmente na África (Sendulsky 1977, Valle et al. 2008).

O gênero *Brachiaria* fornece importantes cultivares forrageiras para as regiões tropicais tanto na África e Austrália, quanto na América do Sul, nessa última mais recentemente. Espécies de *Brachiaria* se adaptam às mais variadas condições de solos, desenvolvendo-se em solos desde úmidos e férteis, até nos solos pobres do Cerrado sujeitos a secas estacionais. Algumas espécies, como a *B. decumbens*, é tolerante a altos níveis de alumínio (Valle et al. 2008).

A importância do gênero *Brachiaria* para o desenvolvimento da pecuária no Brasil reside no fato de que a alimentação de animais ruminantes é realizada em pastos, de onde retiram aproximadamente 90% dos nutrientes (Euclides et al. 2010). Em cerca de 50% da área de pastagens plantadas são cultivadas com espécies do gênero *Brachiaria* (Macedo 2009, Figueiredo et al. 2012).

As gramíneas do gênero *Brachiaria* destacam-se por possuírem uma alta produção de matéria seca, elevada adaptação a diversos tipos de solos e variabilidade para resistência a pragas e doenças. Todas essas características essenciais fazem com que algumas espécies desse gênero sejam ótimas opções para uso como forrageiras tropicais (Valle et al. 2008, Figueiredo 2011, Mendonça 2012).

Quatro espécies de braquiária se destacam como forrageiras em pastagens brasileiras e têm origem africana: *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. ruzizensis* e *B. humidicola* (Valle et al. 2008, Mendonça 2012), possuem elevada herdabilidade para caracteres agronômicos (Resende et al. 2007, Basso et al. 2009), como por exemplo, a produção de matéria seca.

*B. brizantha*, *B. decumbens* e *B. humidicola* são espécies predominantemente apomíticas (Euclides et al. 2010; Jank et al. 2014), ou seja, se reproduzem



assexuadamente por meio de sementes. *B. ruziziensis* é originalmente diploide e sexual, mas sete genótipos foram duplicados artificialmente (Swenne et al. 1981). *B. ruziziensis* tetraploide juntamente com *B. brizantha* e *B. decumbens*, formam um complexo agâmico, ou seja, acessos dessas espécies são passíveis de se intercruzarem gerando híbridos férteis (Valle et al. 2008) e, por isso, fazem parte do programa de melhoramento de braquiária no Brasil (Resende et al. 2008).

A duplicação de cromossomos (Swenne et al. 1981), realizada artificialmente, em *B. ruziziensis*, que originalmente é diploide, permitiu o cruzamento com espécies apomíticas, gerando híbridos interespecíficos e genótipos promissores, os quais encontram-se em avaliação (Valle et al. 2009, Figueiredo 2011, Mendonça et al. 2012).

## 2. *Brachiaria ruziziensis* Germain & Evrard

*B. ruziziensis* tem por sinonímia *Urochloa ruziziensis* (R. Germ. and C.M. Evrard) Crins e é conhecida pelos seguintes nomes comuns: "Congo signal grass", "Congo grass", "Ruzi grass" e "Kennedy Ruzi grass". Originária da África, foi coletada em áreas com solos frescos e não inundáveis, tendo sido encontrada principalmente no vale do rio Ruzizi na República Democrática do Congo e em Ruanda além de Burundi (Keller-Grein et al. 1996). Cultivada, inicialmente, em Ruanda e Quênia, na década de 1960; espalhou-se pela África continental e Madagascar, alcançando a Austrália. Foi lançada em 1969 (Keller-Grein et al. 1996) e ocorre em áreas de campos e áreas antropizadas (Valle et al. 2010).

São apresentadas a seguir algumas características morfológicas que Seiffert (1980) e Valle et al. (2010) descrevem para *B. ruziziensis*: espécie perene, com 1-1,5 m de altura, com rizomas curtos, robustos e globosos. Nós comprimidos, de cor escura e glabros. Lâmina linear-lanceolada, de 10 a 30 cm de comprimento, 10 a 15 mm de largura, pubescentes, verde amareladas, esparsamente pilosa. Possui rizomas fortes, em forma de tubérculos arredondados e com até 15 mm de diâmetro. Inflorescência em panícula com racemos bilaterais, terminais, de 15 a 25 cm de comprimento com 3 a 7 às vezes até 9 ramificações primárias e alternas. A inflorescência está formada por 3-6 racemos de 4-10 mm de comprimento. Ráquis largamente alada, com 4 mm de largura, geralmente de cor arroxeada. Espiguetas

de 5 mm de comprimento, pilosas na parte apical, bisseriadas ao longo da ráquis. A gluma inferior tem 3 mm de comprimento e surge 0,5 a 1 mm abaixo do resto da espiguetas. O flósculo fértil apresenta 4 mm de comprimento.

Dentre as características agronômicas de maior relevância em *B. ruziziensis* estão o estabelecimento e crescimento rápido, que ocorre geralmente no início do período das chuvas, a possibilidade de consorciação com leguminosas, o florescimento concentrado, a alta produção de sementes e o valor nutritivo de biomassa seca (Valle et al. 2010).

*B. ruziziensis* possui elevado valor nutricional e, em função da boa palatabilidade, ocasiona boa aceitação pelo gado (Souza Sobrinho et al. 2010). Apresenta ainda, como vantagem, o fato de ser diploide e sexual, enquanto a maioria das braquiárias é tetraploide e facultativa (Valle and Savidan 1996). Fornece forragem de alto valor nutritivo (Simioni and Valle 2009, Timbó et al. 2014), utilizada em pastagens (Souza Sobrinho 2005), sendo de interesse em cruzamentos interespecíficos para gerar maior variabilidade dentro do gênero.

Experimentos realizados mostraram que a produção de sementes, nos acessos artificialmente tetraploidizados R30, R38, R44, R46, R47 e R50, de *B. ruziziensis* ocorre no período de maio a julho, e pode ser considerada tardia quando comparado a outras cultivares/espécies do gênero, tal como *B. brizantha* cv. Piatã, que floresce em janeiro (Simeão et al. 2012). Evidenciou-se ainda uma concentração de produção de sementes cheias (contendo cariopse) na primeira quinzena de maio para todos os acessos avaliados, sendo que a formação das cariopses coincide com o início do período de menor pluviosidade no ano, na região em que foi realizada a experimentação.

*B. ruziziensis* apresenta baixa adaptação a solos mal drenados e de baixa fertilidade, alta suscetibilidade às cigarrinhas das pastagens, baixa competição com invasoras e baixa tolerância à seca (Valle et al. 2010).

Apesar da grande concentração da produtividade de biomassa de forragem verde e de forragem seca na época das águas, constatou-se a existência de variabilidade genética para estes dois caracteres, assim como, para altura entre progênies de *B. ruziziensis*, tanto na época das águas como na seca e, assim, identificaram-se e selecionaram-se materiais de *B. ruziziensis* com médias mais elevadas e com produção mais estável ao longo do ano (Souza Sobrinho et al. 2011).

Essa espécie apresenta as mais elevadas taxas de degradação e degradabilidade efetivas da matéria seca e da proteína bruta e o menor teor de fibra em detergente neutro (Lopes et al. 2010). Assim, ela é de grande importância em programas de melhoramento do gênero *Brachiaria*, pois além do melhoramento intraespecífico, possibilita a obtenção de híbridos interespecíficos de elevado valor nutricional e com potencial heterótico (Lopes et al. 2010).

### 3. O melhoramento genético de *Brachiaria*

A genética mostrou que certas características, como: resistência a pragas e doenças, produtividade, tamanho e fertilidade, são condicionadas por genes que interagem fortemente com fatores ambientais (Borém 2001). Para manipular esses fatores, faz-se o melhoramento genético.

O melhoramento genético é uma forma inesgotável de geração de nova variabilidade a partir da qual é possível selecionar cultivares que se adaptem às novas demandas da sociedade e às mudanças impostas pelo clima e por outros fatores externos, por meio de programas de melhoramento das espécies (Borém 2001, Squilassi 2003).

Para aumentar a produtividade das áreas já exploradas é que o melhoramento de plantas adquire papel preponderante, pois desenvolve cultivares mais produtivas, o que ocasiona maior oferta de alimentos, além de colaborar para a preservação de ecossistemas e ambientes naturais (Squilassi 2003). Os novos genótipos devem responder às demandas exigidas pela cadeia produtiva até o mercado consumidor, gerando produção mais eficiente, não apenas na capacidade produtiva da forrageira em si, mas, indiretamente, na proteína animal, que é o alvo da importância econômica para o homem, seja na forma de carne, couro, leite ou pele (Valle et al. 2008).

No processo de seleção de plantas forrageiras, o valor nutritivo das forragens é relacionado ao desempenho animal e, é determinado pela digestibilidade, pelo valor nutricional, principalmente, o teor de proteína bruta e pela quantidade de forragem que é consumida pelo animal (Mott 1970; Pereira et al. 2003, Mendonça et al. 2012), além da eficiência pela qual os nutrientes digeridos são transformados em produtos de origem animal (Pereira et al. 2003).

Para se estabelecer o potencial de produção animal, deve-se levar em conta a capacidade de suporte (quantidade de forragem disponível) e o valor nutritivo, o qual interfere sobre a quantidade de energia líquida disponível para o animal (Figueiredo 2011). Para tanto, a forragem deve estar disponível em quantidade adequada ao animal e apresentar um bom valor nutritivo, o qual está relacionado aos seus componentes químicos, à digestibilidade dos mesmos e aos produtos gerados desta digestão (Resende et al. 2009).

Considerando a grande dependência de somente poucos ecótipos de plantas essencialmente apomíticas e que cobrem milhões de hectares (Paulino and Teixeira 2009), como é o caso da *B. brizantha* cv. Marandu que ocupa 50 milhões de hectares (Jank et al. 2014), há a necessidade de explorar a variabilidade genética disponível no banco de germoplasma e nas cultivares para gerar novos tipos superiores (Paiva and Valois 2001) e, assim, diversificar as pastagens com forrageiras adaptadas às mudanças climáticas (Ferreira et al. 2014).

### 3.1 Modo de reprodução

A reprodução em braquiárias pode ser de duas formas: por apomixia ou por via sexual. No modo sexual as sementes resultam de hibridação o que permite obter híbridos viáveis e maior variabilidade genética. Por via apomítica não há segregação, portanto, todos os descendentes são clones da planta mãe (Valle et al. 2008, Worthington and Miles 2015).

A maioria das espécies de *Brachiaria* são apomíticas, ou seja, reproduzem-se assexuadamente. Existem diferentes formas de apomixia, que depende da origem do saco embrionário e do número de mitoses, sendo que a encontrada em *Brachiaria* é a aposporia (Valle et al. 2008; Worthington and Miles 2015) do tipo Panicum (Valle et al. 2008).

O gametófito feminino apospórico, segundo Worthington and Miles (2015), é formado a partir de células somáticas nucelares que se desenvolvem sem fertilização em embriões não reduzidos meioticamente e idênticos à planta-mãe, assim, reproduzindo, fielmente, (clonagem) o genótipo materno em progênes.

Um saco embrionário apospórico não reduzido desenvolve-se a partir de uma célula somática nucelar, ocorrendo apenas duas mitoses, que resulta em quatro

núcleos (um óvulo, duas sinérgides e um único núcleo polar), o que pode distingui-lo de sacos sexuais normais, com oito núcleos (Valle and Savidan 1996, Worthington and Miles 2015), os quais são visíveis usando-se técnicas de clarificação do pistilo e microscopia (Worthington and Miles 2015).

Se a apomixia fosse obrigatória, não permitiria os cruzamentos nem a introgressão de genes para a geração de nova variabilidade em *Brachiaria* (Valle et al. 2008); por isso a importância da identificação de plantas apomíticas facultativas de alta sexualidade e de plantas sexuais, como *B. ruziziensis* para a continuidade dos programa de melhoramento da espécie. Essas plantas, com megagametófitos funcionais, podem ser polinizadas por espécies apomíticas e gerarem progênes segregantes, com a possibilidade de seleção de genótipos superiores (Valle et al. 2008).

Importância também se dá aos estudos citogenéticos, pois entre outros fatores, por meio desses estudos pode-se também, analisar o comportamento cromossômico meiótico, a fim de explicar e quantificar a infertilidade e identificar genitores promissores (Risso-Pascotto et al. 2004, Mendes-Bonato et al. 2006, Valle and Pagliarini 2009).

### 3.2 Programa de melhoramento de *Brachiaria* na Embrapa

O melhoramento de forrageiras pode ser bem complexo, pois envolve elevado número de espécies, modo de reprodução apomítico, no caso de muitas das gramíneas tropicais, e avaliações indiretas do valor forrageiro por meio do desempenho animal (Resende et al. 2013).

O melhoramento genético de gramíneas forrageiras tropicais, mesmo sendo uma atividade recente, promoveu significativos progressos em *Brachiaria* (Miles and Valle 1996, Miles 2007, Resende 2002a, Resende et al. 2005) e híbridos promissores estão em avaliações finais e prontos para comercialização. Isso foi possível porque durante a fase de seleção foram identificados genótipos superiores.

O melhoramento genético de *Brachiaria* é desenvolvido no Brasil pela Embrapa Gado de Corte e Gado de Leite e tem como objetivo inicial obter híbridos persistentes, que reúnam características desejáveis como, por exemplo: alta

produtividade, bom valor nutritivo, adaptação a solos ácidos e resistência às cigarrinhas das pastagens (Valle et al. 2009).

Para que se inicie um programa de melhoramento genético é necessária variabilidade genética na população. Daí, a partir de um banco de germoplasma, selecionam-se os caracteres de interesse que passam a ser utilizados nos cruzamentos ou acasalamentos manipulados pelo homem, o que acarretará um aumento na proporção de *loci* com alelos que codifiquem características fenotípicas favoráveis nos descendentes (Valle et al. 2008, Resende et al. 2008).

Um programa de melhoramento, a fim de obter ganhos, sejam eles em produtividade ou eficiência, compreende três atividades básicas: a formação de populações segregantes, ou seja, com combinações genéticas novas; a avaliação da variabilidade gerada e a seleção dos melhores indivíduos e progênes para novas recombinações e multiplicação, distribuição e utilização dos produtos do melhoramento para concretizar os ganhos (Valle et al. 2008, Resende et al. 2008).

Os programas de melhoramento genético de forrageiras no Brasil são recentes, pois iniciaram-se na década de 1980 (Valle et al. 2008) e visam o aumento da produtividade da forragem e a sustentabilidade do sistema, buscando sempre genótipos superiores.

A Embrapa, com a finalidade de implementar estratégias de melhoramento e diversificar pastagens cultivadas, iniciou esse trabalho por meio de um banco de germoplasma de genótipos oriundos de uma coleta realizada entre 1984 e 1985, no continente africano (Keller-Grein et al. 1996). Para alcançar esses objetivos, foi estudado o modo de reprodução nas progênes e realizados cruzamentos, tanto intraespecíficos quanto interespecíficos, sendo esses últimos, entre plantas sexuais (*Brachiaria ruziziensis*) e plantas apomíticas (*B. brizantha* e *B. decumbens*) (Resende et al. 2008, Valle et al. 2009, Euclides et al. 2010; Jank et al. 2014) até a liberação de novas cultivares.

A Embrapa Gado de Corte avalia híbridos interespecíficos de *Brachiaria* desde 1990 (Simeão et al. 2012). Já foram lançadas, pela Embrapa, alguns produtos do melhoramento, como as seguintes cultivares: *B. brizantha* cv. Xaraés e cv. BRS Piatã e a *B. humidicola* cv. BRS Tupi e mais recentemente, em 2013, a cultivar de *B. brizantha* cv. BRS Paiaguás (Valle et al. 2013), com previsão de lançamento de novas cultivares em curto prazo (Resende et al. 2007, Valle and Pagliarini 2009).

Cerca de 36 acessos de *B. ruziziensis* foram introduzidos no Brasil pela Embrapa, no ano de 1988 (Valle 1990). A Embrapa vem, desde então, trabalhando com essa coleção e realizando estudos e experimentos para melhoramento e seleção das cultivares. Desde 1996, sete genótipos de reprodução sexual de *B. ruziziensis* tetraploidizados artificialmente, por meio de colchicina (Swenne et al. 1981), e que apresentaram estabilidade no comportamento sexual (Valle 1986, Araújo et al. 2005), fazem parte do programa de melhoramento genético de *Brachiaria* da Embrapa Gado de Corte para obtenção de híbridos interespecíficos.

Segundo Valle et al. (2008), explorando a apomixia do complexo *B. brizantha*, *B. decumbens* por meio de *B. ruziziensis* sexual, tetraploidizada artificialmente, viabilizou-se a produção de híbridos interespecíficos para avaliação de desempenho agrônomo, com a possibilidade de seleção de novas cultivares que poderão diversificar as áreas de pastagens brasileiras.

Nesses cruzamentos, como fonte de sexualidade, utiliza-se a espécie *B. ruziziensis* artificialmente tetraploidizada e, como fonte de genitores doadores de pólen, as espécies *B. brizantha* e *B. decumbens*. Dessa forma, são obtidos híbridos interespecíficos. Contudo, alguns desses híbridos são pouco férteis e têm baixa ou nenhuma produção de sementes (Valle et al. 2008), dificultando a funcionalidade de um método de melhoramento a partir de novas hibridações.

O melhoramento intrapopulacional de progênies de *B. ruziziensis* não visa apenas elevar o seu valor econômico para obtenção de uma nova cultivar, mas identificar genitores de alta produtividade e valor nutricional para realizar cruzamentos interespecíficos com *Brachiaria brizantha* e *B. decumbens*, ambas apomíticas (Valle et al. 2008).

Com o objetivo de lançamento de híbridos oriundos da seleção recorrente intrapopulacional, a médio e longo prazo, encontra-se em andamento o primeiro ciclo de seleção da espécie *B. ruziziensis* tetraploide sexual, o qual consiste na avaliação de 1180 progênies de *B. ruziziensis* envolvendo caracteres agrônomo e nutricionais, além de dados de florescimento da espécie. Visa-se, ainda, selecionar indivíduos para prosseguirem no ciclo de melhoramento como indivíduos sexuais para os cruzamentos com braquiárias apomíticas, a fim de se obter melhores progênies para futuros lançamentos como cultivares. Em função disso, avaliam-se parâmetros genéticos e fenotípicos.

#### 4. Estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos em forrageiras tropicais

Os parâmetros genéticos podem ser estimados pelos componentes de variância e são específicos para determinada população. A partir dos componentes de variância, associados a genótipos e ao erro experimental, podem ser estimados a herdabilidade e o ganho com seleção (Ramalho et al. 2005, Figueiredo 2011).

Os componentes de variabilidade fenotípica são resultados da ação conjunta dos efeitos genéticos e do ambiente. O conhecimento desses componentes são essenciais para a escolha dos métodos de melhoramento, do número de repetições e do ganho com seleção. Permitem, inclusive, as avaliações da variabilidade genética disponível para definir a continuação de um programa de melhoramento em andamento (Resende et al. 1995, Farias Neto et al. 2005) e servem para a tomada de decisão em relação ao peso que deve ser atribuído a cada caráter, separadamente ou em conjunto (Cruz 2005, Rossmann 2001).

A herdabilidade, a repetibilidade e as correlações genéticas, são fundamentais para os critérios de seleção no melhoramento de espécies forrageiras, porém, elas ainda são desconhecidas para *B. ruziziensis*.

Jacquard (1983) definiu herdabilidade por meio de três princípios básicos: a medida de semelhança entre pai e filho; a porção genética no sentido amplo e a porção genética no sentido restrito. A herdabilidade ( $h^2$ ) quantifica o quanto da variação fenotípica pode ser herdada, sendo essa última, indicativa da variação do genótipo (Falconer and Mackay 1996). O genótipo é o que influenciará a próxima geração, contudo, somente o seu valor fenotípico poderá ser mensurado (Robinson 1963, Rossmann 2001).

A herdabilidade quantifica um grau de confiabilidade no fenótipo em relação ao genótipo e separa diferenças genéticas das não genéticas (Reis 2000, Resende 2001, Rossmann 2001). Ela expressa quanto de confiança se pode esperar no fenótipo da planta, como um guia para predizer quanto do fenótipo se transmitirá aos seus descendentes.

A herdabilidade pode ser no sentido amplo ( $h_g^2$ ) ou no sentido restrito ( $h_a^2$ ). A herdabilidade no sentido amplo expressa quanto da variação total é devida ao efeito genético total e a herdabilidade no sentido restrito, a mais importante para plantas



propagadas sexualmente, expressa quanto da variação total é devido aos genes com efeitos aditivos (Dudley and Moll 1969, Resende 2001, Basso 2006).

Além da herdabilidade, a repetibilidade também é instrumento indispensável para nortear trabalhos de melhoramento em espécies perenes (Ferreira et al. 1999).

O coeficiente de repetibilidade serve para verificar se o número de avaliações realizadas, ao longo do tempo, nos indivíduos avaliados, é suficiente para inferir superioridade genotípica com determinado grau de certeza (Shimoya et al. 2002). Ele mede a capacidade dos organismos repetirem a expressão do caráter, ao longo do tempo, no decorrer de suas vidas (Resende 2002b). Permite eficiência na seleção fenotípica, redução de custos e de mão de obra (Cornacchia et al. 1995, Cruz and Regazzi 1994, Pereira et al. 1998, Ferreira et al. 1999, Shimoya et al. 2002).

A observação de medidas repetidas ou colheitas, segundo Resende et al. (2008) e Figueiredo (2011), auxiliam na aferição da eficiência da predição do valor genético a partir de consecutivas mensurações em um indivíduo e pode ter duas abordagens. A primeira usa  $m$  medidas para predizer a eficiência, por ciclo seletivo, com o uso de  $m$  medições ao invés de uma e pode ser obtida pela expressão  $\{m/[1+(m-1)\rho]\}^{1/2}$  em que  $\rho$  é a repetibilidade. A segunda abordagem é em função da acurácia seletiva ( $r_{aa}$ ) ou coeficiente de determinação (confiabilidade) ( $r_{aa}^2$ ), escolhida *a priori*.

A correlação, de acordo com Steel and Torrie (1980), é uma medida de intensidade de associação entre duas variáveis, podendo ser positiva, quando ocorre aumento nas duas variáveis, ou negativa, quando há acréscimo de uma e decréscimo de outra.

A correlação genética entre caracteres quantifica as influências genéticas que determinados caracteres exercem uns sobre os outros (Resende 2002b). Esse parâmetro é importante para se exercer seleção simultânea em caracteres, obtendo ganhos com a seleção em ambos, ou, ainda, quando um caráter de interesse apresentar reduzida herdabilidade, problemas de aferição e/ou identificação (Marchioro et al. 2003). Dessa maneira, segundo Cruz and Regazzi (1994), a seleção baseada em um caráter de alta herdabilidade e de fácil mensuração pode ser mais conveniente e conduzir a progressos mais rápidos no melhoramento do que a seleção direta sobre o caráter alvo de baixa herdabilidade.

Quanto mais alta for a correlação genética, significa que a alteração de um caráter, via seleção, promoverá alterações significativas em outros caracteres correlacionados a ele (Resende 2002b).

Existem duas causas da correlação entre caracteres, a genética e a ambiental, e são necessários estudos genéticos para poder distingui-las. A principal causa da correlação genética é o pleiotropismo, que é a propriedade pela qual um gene afeta duas ou mais características e, se o gene estiver segregando, causará variação simultânea nos dois caracteres (Rossmann 2001). Outra causa genética é o desequilíbrio de fase gamética, a qual demonstra que, se não houver forte ligação entre os genes, a correlação pode ser alterada em gerações avançadas por desequilíbrio nos conjuntos gênicos, pelas permutas (Bottignon 2009).

A correlação ambiental ocorre quando as duas características analisadas são influenciadas pelas mesmas variações ambientais, sendo que valores negativos indicam que o ambiente favorece um caráter em detrimento do outro, enquanto que, valores positivos remetem ao fato de que os dois caracteres foram beneficiados ou que os dois caracteres foram prejudicados pelas mesmas causas de variações ambientais (Cruz and Regazzi 1994, Rossmann 2001).

O valor econômico de uma forrageira depende de mais de um caráter simultaneamente: produção de matéria seca, valor nutricional e persistência. O modo de herança e a correlação entre eles podem gerar impacto com ganhos, ou não, na seleção em cada um deles (McEvoy et al. 2011, Chapman et al. 2012).

Os principais métodos estatísticos para a estimação dos parâmetros genéticos em testes de progênie vão desde a análise de variância simples ANOVA (Ferreira 2005), até análises mais específicas de desempenho do genótipo, que inclui modelos de regressão linear univariada e modelos multivariados (Amini et al. 2013) e o procedimento REML/BLUP (máxima verossimilhança restrita / melhor predição linear não viesada) (Resende 2007b).

## 5. Ganhos com seleção

A seleção deve ser criteriosa no sentido de não resultar em descarte precoce de materiais menos adaptados, mas com elevado valor nutritivo, ou a seleção de

alguns que apresentam alta produtividade, mas com reduzido valor nutricional (Euclides et al. 2000, Mendonça 2012).

O ganho genético com seleção depende da herdabilidade do caráter sob seleção, da intensidade de seleção praticada e do controle das condições ambientais (Vencovsky 1987, Miranda et al. 1988). Quanto maior a variabilidade genética em relação ao ambiente e, se a proporção dessa variabilidade genética for devida, principalmente, a efeitos aditivos, maiores serão os ganhos estimados para a geração seguinte (Miranda et al. 1988).

Com os valores dos parâmetros dos ganhos genéticos, o melhorista pode efetuar alterações no critério seletivo adotado, adequando-o ao programa de melhoramento. O produto esperado da seleção de forrageiras não pode ser mensurado diretamente, pois seus atributos estão correlacionados com a produção animal e, indiretamente, medido por análises de características como altura, produção e valor nutritivo da forragem, vigor de rebrota e todos esses fatores, interagindo com o ambiente.

O procedimento padrão para a predição dos valores genéticos em plantas perenes, segundo Resende (2002a), é o BLUP individual, o qual consiste, basicamente, na predição de valores genéticos dos efeitos aleatórios, ajustando os dados aos efeitos fixos e ao número desigual de informações nas parcelas, por meio de metodologia de modelos mistos. O método BLUP assume que os componentes de variância são conhecidos, o que geralmente não é verdade na prática. Usando estimativas de componentes de variância obtidas pelo método de máxima verossimilhança restrita (REML), desenvolvido por Patterson and Thompson (1971), em um modelo individual, estimam-se os verdadeiros componentes de variância (Basso et al. 2009).

Segundo Resende et al. (2013), o ganho genético baseado em BLUP é superior a todos os outros métodos de seleção para os caracteres de herdabilidades menores do que 0,3, exceto para a seleção parental. A estatística de *deviance* é utilizada para os testes de hipóteses dos efeitos aleatórios do modelo. O ajuste de diferentes modelos estatísticos aos dados é testada usando o teste de razão de verossimilhança de Wilks (*Likelihood Ratio Test* - LRT) (Dobson 1990; Resende 2007a).

## 6. Métodos de seleção

A decisão sobre o melhor método de seleção a ser adotado em um programa de melhoramento está condicionado a diversos fatores, como: o sistema de reprodução das espécies-alvo, o germoplasma disponível, os ambientes nos quais a nova cultivar será potencialmente cultivada, o atendimento aos preceitos experimentais de avaliação de campo para as espécies de interesse, a pressão de seleção a ser implementada e o tipo de cultivar a ser desenvolvido (sintético, propagada vegetativamente ou híbrido) (Resende et al. 2013).

Tanto o Centro Internacional de Agricultura Tropical (Ciat) quanto a Embrapa Gado de Corte utilizam como método de melhoramento de braquiária a seleção recorrente (Valle et al. 2008). Seleção recorrente significa praticar reSeleção, geração após geração, com intercruzamento entre os selecionados, para se obter novas combinações genéticas (Hull 1945) superiores. A seleção recorrente, baseada na seleção em famílias de meios-irmãos é mais eficiente do que a do tipo massal ou fenotípica, que possui alto potencial apenas para características de alta herdabilidade.

A seleção recorrente recíproca (SRR), proposta por Comstock et al. (1949), atua simultaneamente tanto para capacidade geral quanto para específica de combinação (Valle et al. 2008) em duas populações complementares, que apresentam heterose em seus cruzamentos.

O esquema de seleção recorrente intrapopulacional no melhoramento de forrageiras é constituído de quatro fases. Na fase 1, obtenção de progênies. Na 2ª fase avaliam-se as características agrônômicas dos materiais (acessos), através de cortes, bem como características de qualidade nutricional e florescimento, a fim de selecionar genótipos superiores. Na 3ª fase é realizada a seleção. E na 4ª fase faz-se a recombinação (Comstock et al. 1949).

O objetivo da realização de cruzamentos interespecíficos é a obtenção de híbridos superiores, combinando os principais caracteres de interesse em uma forrageira tropical que são: maior produção de biomassa, maior teor de proteína, maior digestibilidade e elevada resistência às pragas, principalmente, às cigarrinhas das pastagens.

No método de SRR, realiza-se o cruzamento de plantas sexuais com apomíticas. Desse cruzamento, resulta uma população F1 segregante para o modo de reprodução e para as características de interesse. Esta é a nova proposta de Worthington and Miles (2015), que propuseram a seleção recorrente recíproca de progênie como método adequado para aumentar os efeitos de heterose em uma população de *Brachiaria* de reprodução sexual. Como resultado, observaram que a SRR permitiu um ganho acelerado em relação à seleção recorrente para capacidade específica de combinação em *Brachiaria*.

No melhoramento da população de *B. ruziziensis* tetraploide e sexual são obtidos híbridos sexuais elites, que são inter cruzados e selecionados por vários ciclos e, finalmente, cruzados com apomíticos elites para gerar novas cultivares apomíticas (Valle et al. 2008).

## 7. Índices de seleção

O procedimento ótimo de seleção é o que usa as informações disponíveis dos valores genéticos individuais combinados em um índice de méritos (Falconer and Mackay 1996, Bernardo 2010) para os múltiplos caracteres adotados como critérios de seleção (Resende 2002a).

Índices de seleção usando pesos econômicos são ainda pouco utilizados em forrageiras tropicais (Figueiredo et al. 2012). A utilização de um índice de seleção admite combinar informações e possibilita a seleção baseada num conjunto de variáveis (Cruz and Regazzi 1994), o que permite a seleção simultânea de múltiplos caracteres (Rossmann 2001) que reúnam os atributos de interesse para o programa de melhoramento.

Diferentes cultivares proporcionam diferenças na resposta animal. Entretanto, pouco se sabe sobre quais caracteres específicos da forragem contribuem para essas diferenças (Valle et al. 2013).

O ganho médio de peso diário do gado e a capacidade de suporte da pastagem são melhorados quando uma cultivar de gramínea apresenta maior rendimento durante todo o período de crescimento (Valle et al. 2013). Um dos preceitos da pesquisa de melhoramento é procurar desenvolver cultivares que atendam às exigências dos produtores de gado, em relação às braquiárias, que são de uma

melhor distribuição da produção forrageira, tanto na estação seca quanto no período de chuvas, pois os animais criados em pastos devem ter alimentação adequada durante todo o ano.

Modelos de índice podem considerar apenas a produção de matéria seca em diferentes estações do ano (Chapman et al. 2012; Smith and Fennessy 2014) ou podem incluir rendimento sazonal e mensal, estimado de produção de matéria seca, digestibilidade, produtividade e persistência (McEvoy et al. 2011).

Resende (2007a) propuseram uma característica chamada de produção de proteína digerível total na rebrota (PPDTR) e indicaram que a determinação adequada dos pesos econômicos de caracteres para a composição de índices de seleção deve ser baseada nas correlações genéticas entre os vários caracteres e PPDTR, pois segundo esse mesmo autor, o objetivo final no melhoramento de forrageiras é a produção total de proteínas digestíveis na rebrota (PPDTR).

É importante para o melhoramento da espécie, detectar a variabilidade genética precocemente e usá-la em futuros ciclos de melhoramento, sem estreitamento da base genética da população sexual disponível. Para isso, pode-se adotar a seleção em dois níveis de intensidade, com uma fase de seleção com base em um segundo índice incorporando os caracteres nutricionais (Figueiredo et al. 2013).

## 8. Valor nutricional das forrageiras tropicais

No processo de seleção de plantas forrageiras, características relacionadas ao valor nutricional são importantes para discriminar os materiais avaliados, pois a produtividade animal (produção de carne, leite e/ou lã) depende de tais características (Valle et al. 2008). Portanto, o valor nutritivo de uma forrageira se constitui numa forma indireta de avaliação do rendimento animal.

Forrageiras tropicais, normalmente, possuem baixo valor nutricional, que está associado ao reduzido teor de proteína bruta e minerais, ao alto conteúdo de fibra e à baixa digestibilidade da matéria seca (Van Soest 1994, Euclides 1995).

Quando a composição química, principalmente, o teor de proteína bruta (PB) e a digestibilidade estão associados ao consumo de matéria seca pelo animal, tem-se a qualidade da forragem (Mott 1970, Mendonça 2012). A qualidade de uma forragem

é, portanto, determinada pelo seu valor nutricional e pela quantidade de forragem que é consumida pelo animal.

Dois fatores influenciam sobre o valor nutricional a proporção de tecidos e a espessura da parede celular, as quais apresentam elevadas correlações com os teores de fibra, de lignina e de proteína bruta (PB), assim como com o coeficiente de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS). Os tecidos de baixa digestão correlacionam-se negativamente com o conteúdo de PB e o coeficiente de DIVMS e, positivamente, com os teores de fibra e de lignina (Paciullo 2002). A lignina atua sobre a taxa de degradação e degradabilidade efetiva da parede celular nos alimentos volumosos (Van Soest 1994, Mendonça 2012).

O espessamento da parede celular, observado com o amadurecimento dos tecidos vegetais, resulta no aumento da concentração da fibra em detergente neutro (FDN) em detrimento do conteúdo celular. Em gramíneas, o conteúdo de FDN é maior no caule em relação às folhas (Brito et al. 2003) e influencia o consumo de alimentos em ruminantes (Zimmer et al. 1988, Mendonça 2012), pois alimentos com excesso de fibras são indigestos e rejeitados pelo animal.

Pastagens com cortes mais frequentes, ou seja, induzindo as rebrotas mais novas, tendem a ser menos produtivas, mas apresentam melhor qualidade (Zimmer et al. 1988).

As forrageiras tropicais, consideradas altamente produtivas, concentram, aproximadamente, 80% de sua produção anual de forragem na época das chuvas e de temperaturas mais elevadas. Alterações nas condições ambientais também provocam variações na composição química da forragem que, dependendo das variações ambientais, da idade da planta, de fatores fisiológicos e morfológicos e da diferença natural entre as espécies, pode não fornecer quantidades suficientes de nutrientes para a produção máxima dos animais (Euclides 2001).

Para que haja crescimento satisfatório de ruminantes, o conteúdo da forragem por eles consumidas deve estar acima de 7% de PB (proteína bruta), valor considerado mínimo para a manutenção da atividade microbiana ruminal (Valle et al. 2010). Em *B. ruziziensis*, esse valor permanece nos 7%, considerado uma boa taxa de PB, quase igualando a *B. brizantha* com 7,5% e maior que *B. decumbens* e *B. humidicola* que possuem, respectivamente, 6,4% e 6,8% de proteína bruta (Lopes et al. 2010).

Quanto à digestibilidade para o crescimento satisfatório dos ruminantes, o ideal é estar acima de 50% (Valle et al. 2010). Durante o pastejo, o animal tende a selecionar a dieta, de forma a alcançar suas necessidades proteicas, preferindo lâminas foliares (que apresentam maiores teores de proteína bruta) a colmos (Trindade et al. 2007, Baroni et al. 2010).

As maiores taxas de degradação e degradabilidade efetiva da matéria seca e da proteína bruta, em *B. ruziziensis* e o menor teor de fibra em detergente neutro associado à maior taxa de degradação desse nutriente, conferem a melhor qualidade nutricional da forragem de *Brachiaria ruziziensis* em relação a *B. brizantha*, *B. decumbens* e *B. humidicola* (Lopes et al. 2010).

Do ponto de vista do melhoramento genético, busca-se nas cultivares em desenvolvimento, além da resistência às pragas e às doenças e da adaptação aos diferentes tipos de solos, o aumento nos teores de proteína bruta e do potencial nutritivo como um todo para que aumente a eficiência da produtividade animal.

## 9. Cigarrinhas das pastagens

Em termos de pragas e de doenças, buscam-se plantas mais resistentes, haja vista, que, em algumas regiões do Brasil a incidência de insetos nas pastagens é grande, principalmente, a presença das cigarrinha das pastagens, o que ocasiona perdas de produtividade e, algumas vezes, até a morte dos pastos. As cigarrinhas das pastagens (Homoptera-Cercopidae) são comumente encontradas na região Centro Sul do Brasil. Os ataques mais intensos dessa praga foram observados em áreas de elevada precipitação, durante o período chuvoso (Dias-Filho 2014).

Independente da espécie, as injúrias ocasionadas aos pastos são muito parecidas. Essa praga é causadora de grandes danos nas pastagens e pode ser encontrada na fase jovem ou na fase adulta. Quando jovem, ela se desenvolve na base da planta, junto a um exsudato de espuma branca, que ela mesma secreta. Na fase adulta, encontra-se movendo-se ativamente, saltando ou voando sobre as forrageiras (Valério 2009).

As injúrias aparecem, geralmente, três semanas após o ataque, iniciando com o aparecimento de estrias cloráticas nas folhas e evoluindo até o secamento e morte



das mesmas, pois o inseto, ao sugar, injeta uma toxina que causa a necrose dos tecidos e a queima das folhas (Picanço 2010).

Dependendo do grau de ataque pode haver a morte de muitas plantas. O problema das cigarrinhas é, portanto, bastante grave, pois além da vasta área atacada, elas concorrem com o gado na época em que ele normalmente deveria recuperar-se do período de seca e, nessa época, o capim amarelecido torna-se impalatável e desagradável, o que faz com que o animal coma menos, reduzindo, assim, a produção de leite e carne (Valério 2009, Picanço 2010).

O comprometimento das pastagens, anualmente atacadas por esses insetos, é problema relevante dentro da bovinocultura de corte em toda a América tropical. *B. ruziense* é suscetível ao ataque de cigarrinhas (Dias-Filho 2014, Valério, 2009, Picanço 2010).

## 10. Fenologia do florescimento

O florescimento de gramíneas forrageiras, temperadas e tropicais é determinado, principalmente, por dois fatores: o comprimento do dia (fotoperíodo) e a temperatura (Humphreys et al. 2006). Além desses fatores, também existe a interação com genes associados ao florescimento, ativando-os ou desativando-os.

Na maioria das gramíneas temperadas perenes há muita variação entre espécies e entre ecótipos da mesma espécie, quanto à temperatura crítica, ao comprimento do dia e ao período de exposição de plantas para a indução floral. A iniciação floral é uma alteração morfológica de um ponto de crescimento que foi induzido a formar um primórdio floral (Hodgson 1966), normalmente, iniciando-se na primavera ou no outono (Biligtu et al. 2013). Biligtu et al. (2013) comparou as condições meteorológicas entre anos de estudo durante o período de indução floral em *Festuca hallii* e concluiu, também, que uma precipitação elevada, pode ocasionar mudanças na umidade adequada do solo, antes da indução floral e limitar o desenvolvimento das flores.

Arnoult et al. (2014), em um estudo de clones de *Miscanthus*, relataram grandes diferenças de florescimento e de características de arquitetura da panícula e disseram que a duração do dia pareceu ser o fator ambiental mais importante para

explicar essas diferenças, em contraste com o fator temperatura, para o número total de flores por panícula.

Casler et al. (2013), ao compararem cultivares de *Dactylis glomerata* com diferentes tipos de florescimento, normal ou esparso, evidenciaram efeito da temperatura na densidade de panículas, na data de início de florescimento, na produção no primeiro corte e no rendimento total de forragem. Nesse caso, as cultivares de florescimento esparso foram sempre inferiores às de florescimento normal para os caracteres número de panículas, rendimento de forragem total e produção de forragem no primeiro corte.

No melhoramento de gramíneas forrageiras tropicais, o período de florescimento e a época do ano em que ele ocorre não são, geralmente, caracteres alvos da seleção, pois em cultivo e sob pressão de pastejo, o florescimento é praticamente inexistente. Dessa forma, aumenta-se o valor nutritivo e a qualidade da forragem, e, também, segundo Marcelino et al. (2006), acaba reduzindo as perdas por acúmulo de material morto.

A fenologia reprodutiva ou fenologia do florescimento é importante no melhoramento de forrageiras para a realização de cruzamentos, para a obtenção de progênes (de polinização aberta, de meios-irmãos e de irmãos completos), bem como para a produção de sementes. Importância essa se deve ao fato de que, no ciclo de melhoramento intrapopulacional de *B. ruzizensis*, foram utilizadas progênes de polinização aberta, ou seja, a fecundação aconteceu entre as diversas progênes presentes naquele local e, portanto, não poderia haver assincronia de florescimento, para não comprometer os cruzamentos (Berg 1981, Casler et al. 2013).

Outro fator negativo da assincronia, para o melhoramento, é uma amostragem gênica inadequada e a diminuição dos ganhos genéticos preditos nos próximos ciclos. Além disso, na hibridação interespecífica, tanto para genótipos sexuais quanto para apomíticos, o conhecimento do período de florescimento é condição essencial para o planejamento dos cruzamentos controlados e o sucesso na obtenção de híbridos. Portanto, o estudo da sincronização do florescimento é fator de relevância e indispensável no melhoramento genético de forrageiras (Berg 1981, Casler et al. 2013).

Os efeitos da interação genótipos x ambientes, na expressão do florescimento, são conhecidos em algumas gramíneas temperadas (Casler et al.

2013, Arnout et al. 2014) e esses podem resultar na expressão de características diferentes por local.

Duas importantes questões são abordadas por Casler et al. (2013): Uma refere-se ao questionamento de quão estável é o caráter floração esparsa sob uma vasta gama de condições ambientais experimentadas na gramínea *Dactylis glomerata*, e, a outra questão refere-se ao impacto dessa característica agrônômica sob condições de produção. Os autores responderam a essas questões com dois tipos de experimentos: um deles, com colheitas frequentes e, o outro, com colheitas pouco frequentes, sob uma extensa gama de condições de crescimento. As diferenças entre as médias dos dois grupos avaliados, ou seja, cultivares de florescimento normal ou esparsos, foram significativas para quase todas as variáveis, exceto, para o segundo e o terceiro cortes da produção de forragem, para colheita não frequente.

Berg (1981) relata não haver evidência do efeito da floração na qualidade da forragem em *Dactylis glomerata*, enquanto Casler et al. (2013) evidenciaram que as cultivares com flores esparsas apresentaram 9% a mais de proteína bruta e 3% a menos de FDN nessa mesma espécie.

O florescimento também está relacionado ao alongamento do colmo, em gramíneas forrageiras tropicais, pois ambos ocorrem concomitantemente; junto com a quantidade de material morto, ocasiona mudanças na estrutura do dossel e, portanto, no desempenho animal (Euclides et al. 2008).

Os trabalhos a seguir, foram elaborados, segundo as normas dos seguintes periódicos:

Capítulo 1 - Genetic evaluation and selection index in *Brachiaria ruziziensis* tetraploid - Revista Euphytica.

Capítulo 2 - Flowering traits in *Brachiaria ruziziensis* tetraploid breeding - Revista CBAB (Crop Breeding and Applied Biotechnology).

Obs: as referências bibliográficas a seguir, seguiram as normas da Revista CBAB.

## Referências bibliográficas

- Amini F, Majidi MM and Mirlohi A (2013) Genetic and genotype x environment interaction analysis for agronomical and some morphological traits in half-sib families of tall fescue. **Crop Science** **53**: 411-421.
- Araújo ACG, Nóbrega JM, Pazzobon and Carneiro VTC (2005) Evidence of sexuality in induced tetraploids of *Brachiaria brizantha* (Poaceae). **Euphytica** **144**: 39- 50
- Arnout S Quillet M-C and Brancourt-Hulmel M (2014) *Miscanthus* clones display large variation in floral biology and different environmental sensitivities useful for breeding. **Bioenergy Research** **7**: 430-441.
- Baroni CES, Lana RP, Mancio AB, Queiroz AC, Svezut CB and Mendonça BPC (2010) Desempenho de novilhos suplementados e terminados em pasto, na seca, e avaliação do pasto. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** **62**: 373-381.
- Basso KC (2006) **Estimação de parâmetros genéticos e índice de seleção em genótipos de *Brachiaria brizantha*** (2006) Universidade Federal da Grande Dourados. Mestrado em Agronomia. Dourados. Dissertação. 58 p.
- Basso KC, Resende RMS, Valle CB, Gonçalves MC and Lempp B. (2009) Avaliação de acessos de *Brachiaria brizantha* Stapf e estimativas de parâmetros genéticos para caracteres agrônômicos. **Acta Scientiarum** **31**: 17-22
- Berg CC (1981) Floral induction and forage yield and quality of sparse-flowering orchardgrass synthetics. **Crop Science** **21**:677–680.
- Bernardo R (2010). **Breeding for quantitative traits in plants**. 2<sup>nd</sup>. Ed. Minnesota: Stemma Press, 400p.
- Biligetü B, Schellenberg MP, McLeod JG and Wang Z (2013) Seed yield variation in plains rough fescue (*Festuca hallii* (Vasey) Piper) populations and its relation with phenotypic characteristics and environmental factors. **Grass and Forage Science**, **68**: 589-595.
- Borém A (2001) **Melhoramento de plantas**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 500p.
- Bottignon MR (2009) **Estimativas de parâmetros genéticos em *Lippia alba* (Mill.) N. E. BR, quimiótipo linalol, em progênies clonais de meios irmãos**. Agricultura Tropical e Subtropical - IAC Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas. Dissertação. 67p.
- Brito CGFA, Rodella RA and Deschamps FC (2003) Chemical profile of cell wall and its implications on *Brachiaria brizantha* and *Brachiaria humidicola* digestibility. **Revista Brasileira de Zootecnia**, **32**:1835-1844.
- Casler MD, Papadopolous YA, Bittman S, Mathison RD, Min DH, Robins JG, Cherney JH, Acharya SN, Belesky DP, Bowley SR, Coulman BE, Drapeau R, Ehlike NJ, Hall MH, Leep RH, Michaud R, Rowsell J, Shewmaker GE, Teutsch CD and Coblenz WK (2013) Sparse-flowering orchardgrass is stable across temperate North America. **Crop Science** **53**: 1870-1877.

- Chapman DF, Bryant JR, McMillan WH and Khaembah EN (2012) Economic values for evaluating pasture plant characters. **Proceed of the New Zealand Grassland Assoc 74**: 209-216.
- Comstock RF, Robinson HF and Harvey PH (1949) A breeding procedure designed to make maximum use of both general and specific combining ability. **Agronomy Journal 41**: 360-367.
- Cornacchia G, Cruz CD and Pires W (1995) Seleção combinada e seleção entre e dentro de famílias de meios-irmãos de três espécies do gênero *Pinus*. **Revista Árvore 19**: 200-212.
- Cruz CD (2005) **Princípios de genética quantitativa**. UFV, Viçosa, 394p.
- Cruz CD and Regazzi AJ (1994) **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Editora UFV, Viçosa, 390p.
- Dias-Filho MB (2014) **Diagnóstico das Pastagens no Brasil**. Documentos 402. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Amazônia Oriental Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento ISSN: 1983-0513.
- Dobson AJ (1990) **An introduction to generalized linear models**. Chapman & Hall, Melbourne, 174p.
- Dudley JW and Moll RH (1969) Interpretation and use of estimates of heritability and genetic variances in plant breeding. **Crop Science 9**: 257-262.
- Euclides VPB (1995) **Valor alimentício de espécies forrageiras do gênero Panicum**. In: Simpósio sobre Manejo da Pastagem, 12, Piracicaba. Anais... Piracicaba: FEALQ, p.245-73.
- Euclides VPB (2001) **Produção intensiva de carne bovina em pasto**. In: Simpósio de Produção de Gado de Corte, 2, Viçosa. Anais...Viçosa: UFV/DZO, p.55-82.
- Euclides VPB, Cardoso EG, Macedo MCM and Oliveira MP (2000) Consumo voluntário de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk e *Brachiaria brizantha* cv. Marandu sob pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia 29(6)**: 2200-2208 (Suplemento 2).
- Euclides VPB, Macedo MCM, Valle CB, Barbosa RA and Gonçalves WV (2008) Produção de forragem e características da estrutura do dossel de cultivares de *Brachiaria brizantha* sob pastejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira 43(12)**: 1805-1812.
- Euclides VPB, Valle CB, Macedo MCM, Almeida RG, Denise Baptaglin Montagner DB and Barbosa RA (2010) Brazilian scientific progress in pasture research during the first decade of XXI century. **Revista Brasileira de Zootecnia 39**: 151-168.
- Falconer DS and Mackay TFC (1996) **Introduction to quantitative genetics**. Longman, Malaysia/London, 463p.
- Faostat (2011) **Food and Agriculture Organization of the United Nations** – for a world without hunger. <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>> acesso em: 23 jun. 2014.
- Farias Neto JT de, Oliveira do MSP, Muller AA, Nogueira OL and Anaissi DF dos SP (2005) Variabilidade Genética em Progênes jovens de Açaizeiro. **Cerne 11(4)**: 336-341.
- Ferreira DF (2005) **Estatística básica**. 1. ed. Lavras, Editora UFLA, 664p.

- Ferreira LG, Sousa SB de and Arantes AE (2014) **Radiografia das Pastagens do Brasil**. Universidade Federal de Goiás - Laboratório de Processamento de Imagens e Geoprocessamento (LAPIG/UFG) Secretaria de Assuntos Estratégicos da Presidência da República – SAE/PR, dez 2014, Goiânia, Brasil.
- Ferreira RDP, Botrel MA, Pereira AV and Cruz, CD (1999) Avaliação de cultivares de alfafa e estimativas de repetibilidade de caracteres forrageiros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **34**: 995-1002
- Figueiredo UJ (2011) **Estimação de parâmetros genéticos e fenotípicos em progênies de *Brachiaria humidicola***. UFLA. Genética e Melhoramento de Plantas. Lavras. Dissertação. 75p.
- Figueiredo UJ Nunes JAR and Valle CB (2012) Estimation of genetic parameters and selection of *Brachiaria humidicola* progenies using a selection index. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** **12**: 237-244.
- Figueiredo UJ, Nunes JAR, Valle CB, Barrios SCL and Alves GF (2013) Effects of season and year of evaluation in the selection of *Brachiaria humidicola* hybrids. **Tropical Grasslands – Forrajes Tropicales**. v. 1. p. 1-5.
- Hodgson HJ (1966) Floral initiation in Alaskan. **Gramineae. Botanical Gazette** **127**: 64–70. <<http://www.cpatc.embrapa.br/download/D56.pdf>> acesso em: 04 mar. 2015.
- Hull FH (1945) Recurrent selection for specific combining ability in corn. **Jour. Amer. Soc. Agron.** **37**: 134-145.
- Humphreys MW, Yadav RS, Cairns AJ, Turner LB, Humphreys J and Skot L (2006) A changing climate for grassland research. **New Phytologist** **169**: 9-26.
- IBGE (2015) Indicadores IBGE. **Estatística da Produção Pecuária - Setembro de 2015**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 45 p.
- Jacquard A (1983) Heritability: one word, three concepts. **Biometrics** **39(2)**: 465-77.
- Jank L, Barrios SC, Valle CB, Simeão RM and Alves GF (2014) The value of improved pastures to Brazilian beef production. **Crop and Pasture Science** **65**: 1132-1137.
- Keller-Grein G Maass BL and Hanson J (1996) Natural variation in *Brachiaria* and existing germoplasma collections. In: Miles JW, Maass BL and Valle, CB (ed) ***Brachiaria: Biology, Agronomy and Improvement***, CIAT/Embrapa, Cati, Colombia, pp 17–42.
- Lopes FCF Paciullo DSC, Mota EF, Pereira JC, Azambuja AA, Motta ACS, Rodrigues GS and Duque ACA (2010) Composição química e digestibilidade ruminal in situ da forragem de quatro espécies do gênero *Brachiaria*. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** **62(4)**: 883-888.
- Macedo MCM (2009) Integração lavoura e pecuária: o estado da arte e inovações tecnológicas. **Revista Brasileira de Zootecnia** **38**: 133-1.
- Machioro VS, Carvalho FIF de, Oliveira AC de, Lorencetti C, Benin G, Silva JAG da, Kurek AJ and Hartwig I (2003) Herdabilidade e correlações para caracteres de panícula em populações segregantes de aveia. **R. Bras. Agrociência** **9(4)**: 323-328.
- MAPA (2015) **Projeções do Agronegócio: Brasil 2014/15 a 2024/25 Projeções de Longo Prazo**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Brasília Julho de 2015.

- <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/PROJECOES\\_DO\\_AGRONEGOCIO\\_2025\\_WEB.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/PROJECOES_DO_AGRONEGOCIO_2025_WEB.pdf)> acesso em: 04 ago. 2015.
- Marcelino KRA, Nascimento Junior D do, Sila Carneiro da Silva SC da, Euclides VPB and Fonseca DM da (2006) Características morfogênicas e estruturais e produção de forragem do capim-marandu submetido a intensidades e frequências de desfolhação. **Revista Brasileira de Zootecnia 35**: 2243-2252.
- McEvoy M, O'Donovan M and Shalloo L (2011) Development and application of an economic ranking index for perennial ryegrass cultivars. **J. Dairy Sci. 94**: 1627-1639.
- Mendes-Bonato AB, Pagliarini MS and Valle CB do (2006) Abnormal spindle orientations during microsporogenesis in an interspecific hybrid of *Brachiaria* (Gramineae). **Genetics and Molecular Biology 29**: 122-125.
- Mendonça SA (2012) **Avaliação agrônômica e modo de reprodução de híbridos intraespecíficos de *Brachiaria decumbens***. UEP. Zootecnia. Botucatu. Dissertação. 51p.
- Mendonça SA, Mateus RG, Barrios SCL, Valle CB, Meirelles PRL and Figueiredo UJ (2012) **Avaliação de híbridos intraespecíficos de *Brachiaria decumbens* sob cortes**. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 49, Brasília. Anais... Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia.
- Miles JW (2007) Apomixis for cultivar development in tropical grasses. **Crop Sci 47**: S238-S249.
- Miles JW and Valle CB do (1996) Manipulation of apomixis in *Brachiaria* breeding In: Miles JW, Maass BL & Valle CB do (eds.) ***Brachiaria: biology, agronomy, and improvement***. CIAT/Brasília:EMBRAPA-CNPQC, (CIAT Publication, n. 259) p. 164-177.
- Miranda JEC, Costa CP and Cruz CD (1988) Correlações genotípica, fenotípica e de ambiente entre caracteres de fruto e planta de pimentão (*Capsicum annuum* L.). **Revista Brasileira de Genética 11(2)**: 457-468.
- Mott GO (1970) Evaluacion de la produccion de forrajes In: Hughes HD, Heath Me, Metcalfe DS (eds.) **Forrajes - la ciencia de la agricultura basada en la producción de pastos, México**, p.131-141.
- ONUBR (2013) **População mundial deve atingir 9,6 bilhões em 2050, diz novo relatório da ONU**. <http://nacoesunidas.org/populacao-mundial-deve-atingir-96-bilhoes-em-2050-diz-novo-relatorio-da-onu/>
- ONUBR (2015) **Novo estudo da ONU indica que mundo terá 11 bilhões de habitantes em 2100**. <http://nacoesunidas.org/novo-estudo-da-onu-indica-que-mundo-tera-11-bilhoes-de-habitantes-em-2100/>
- Paciullo DSC (2002) Características anatômicas relacionadas ao valor nutritivo de gramíneas forrageiras. **Cienc. Rural** [online] **32(2)**: 357-364. ISSN 1678-4596. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782002000200029>.
- Paiva JR and Valois ACC (2001) Espécies selvagens e sua utilização no melhoramento. In: Nass LL, Valois ACC, Melo IS and Valadares-Ingliš MC (eds) **Recursos genéticos e melhoramento-plantas**. Fundação MT, Rondonópolis, p.79-100.

Patterson HD and Thompson R (1971) Recovery of inter-block information when block sizes are unequal. **Biometrika** **58(3)**: 545-54.

Paulino VT and Teixeira EML (2009) **Sustentabilidade de Pastagens – Manejo adequado como medida redutora da emissão de gases de efeito estufa**. CPG - Produção animal sustentável, Ecologia de Pastagens, IZ, APTA/SAA. p. 1-16.

Pereira AV, Ferreira RP, Cruz CD, Freitas VP and Oliveira PTA (1998) Comportamento de alfafa cv. Crioula de diferentes origens e estimativas dos coeficientes de repetibilidade para caracteres forrageiros. **Revista Brasileira de Zootecnia** **27**: 686-690.

Pereira AV, Souza Sobrinho F, Souza FHD and Lédo FJS (2003) **Tendência do melhoramento genético e introdução de sementes de forrageiras no Brasil**. VII Simpósio de Atualização em Genética e Melhoramento de Plantas.

Picanço RC (2010) **Manejo integrado de pragas**. UFV. Viçosa. Departamento de Biologia Animal. Apostila 146 p.

Ramalho MAP Ferreira DF and Oliveira AC (2005). **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. 2 ed. Lavras, 326 p.

Reis EF (2000) **Ganhos preditos e realizados, por diferentes estratégias de seleção, em populações de soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. UFV, Viçosa, 2000. Tese (D.S.), 120p.

Resende FD, Sampaio RL, Siqueira GR, Reis RA, Faria MH and Ferreira LH de (2009) **Estratégias de suplementação na recria e terminação de bovinos de corte**. In: Simpósio de Forragicultura e Pastagens, 7, Lavras, Anais... Lavras: NEFOR, pp 157-184.

Resende MDV (2002a) **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Informação Tecnológica, Brasília. 975 p.

Resende MDV (2002b) **Software Selegen – REML/BLUP**. Embrapa Florestas, Colombo.

Resende MDV de (2007a) **Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético**. Embrapa Florestas, Colombo. 561p.

Resende MDV de (2007b) **Software SELEGEN – REML/BLUP: Sistema estatístico e seleção computadorizada via modelos lineares mistos**. Embrapa Florestas, Colombo.

Resende MDV, Barbosa MHP, Rezende GDSP, Aguiar MA, Dias LAS and Sturion JA (2005). **Métodos e estratégias de melhoramento de espécies perenes: estado da arte e perspectivas**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 3., 2005, Gramado. Anais... Passo Fundo: Embrapa Trigo; [S.I.]: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2005. <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/315917> acesso em: 07 jul 2015.

Resende MDV, Resende RMS, Jank L and Valle CB (2008) Experimentação e análise estatística no melhoramento de forrageiras. In: Resende RMS, Valle CB, Jank L (eds) **Melhoramento de forrageiras tropicais**. Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, pp 195-293.



- Resende MDV, Sturion JA and Mendes S (1995) **Genética e melhoramento de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill)**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 33p. (EMBRAPA-CNPQ. Documentos, 25).
- Resende RMS (2001). **Avaliação genética de populações e progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire)**. Universidade Federal do Paraná, 2001. 124p. Tese (Doutorado em Genética). Curitiba – 2001.
- Resende RMS, Casler MD and Resende MDV (2013) Selection methods in forage breeding: A quantitative appraisal. **Crop Science** **53(5)**: 1925-1936.
- Resende RMS, Resende MDV de, Valle CB do, Jank L, Torres Júnior RAA and Cançado LJ (2007) Selection efficiency in *Brachiaria* hybrids using a posteriori blocking. **Crop Breed and Appl Biotech** **7**: 296-303.
- Risso-Pascotto, C Pagliarini MS and Valle CB do (2004) Asynchronous meiotic rhythm as the cause of selective chromosome elimination in an interspecific *Brachiaria* hybrid. Heidelberg. **Plant Cell Reports** **22**: 945-950.
- Robinson P (1963) Heritability: a second look. In: Hanson WD, Robinson HF (eds) **Statistical genetics and plant breeding**. NAS-NCR, Washington, pp 609-614.
- Rossmann H (2001) **Estimativa de parâmetros genéticos e fenotípicos de uma população de soja avaliada em quatro anos**. Universidade de São Paulo. ESALQ. Piracicaba. Tese. 80p.
- Seiffert NF (1980) **Gramíneas Forrageiras do gênero *Brachiaria***. Circular Técnica nº 1, Embrapa-CNPQ, jan. 1980, ed. 1984, Campo Grande - MS <http://www.cnpq.embrapa.br/publicacoes/ct/ct01/index.html> acesso 02 abril 2015.
- Sendulsky T (1977) Chave para identificação de *Brachiaria*. **J. Agroceres** **5(56)**: 4-5.
- Shimoya A, Pereira AV, Ferreira R de P, Cruz CD and Carneiro PCS (2002) Repetibilidade de características forrageiras do capim elefante. **Scientia Agricola** **59**: 227-234.
- Simeão RM, Valle CB do, Alves GF, Moreira DAL, Silva DR da, Araújo D de F, Ferreira RCU, Barrios SCL, Jank L, Caramalac GR, Naka IM, Calixto S and Carvalho J. de (2012) **Melhoramento de *Brachiaria ruziziensis* tetraploide sexual na Embrapa: métodos e avanços**. Embrapa, Campo Grande. Documentos 194: 1-32.
- Simioni C and Valle CB do (2009) Chromosome duplication in *Brachiaria* (A. Rich.) Stapf allows intraspecific crosses. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** **9**: 328-334.
- Smith KF and Fennessy PF (2014) Utilizing conjoint analysis to develop breeding objectives for the improvement of pasture species for contrasting environments when the relative values of individual traits are difficult to assess. **Sustainable Agriculture Research** **3(2)**, p.44.
- Souza Sobrinho F (2005) Melhoramento de forrageiras no Brasil. In: Simpósio de Forragicultura e Pastagens.5. Lavras. **Anais ...Lavras:UFLA/FAEPE**. 1CD-ROM.
- Souza Sobrinho F, Auad AM and Léo FJS (2010) Genetic variability in *Brachiaria ruziziensis* for resistance to spittlebugs. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** **10**: 83-88.
- Souza Sobrinho F, Léo FJ da S and Kopp MM (2011) Estacionalidade de Produção de Forragem de Progênies de *Brachiaria ruziziensis*. **Ciênc. agrotec.****35(4)**: 685-691.

- Squilassi MG (2003) **Melhoramento de plantas e produção de alimentos**. Documentos 56. Aracaju, SE. ISSN 1517-1329.
- Steel RGD and Torrie JH (1980) **Principles and procedures of statistics**. New York, McGraw-Hill. 633p.
- Swenne A Louant B-P and Dujardin M (1981) Induction par la colchicine de formes autotétraploïdes chez *Brachiaria ruziziensis* Germain et Evrard (Graminée). **Agronomie Tropicale** 36: 134-141.
- Timbó AL de O, Souza PN da C, Pereira RC, Nunes JD, Pinto JEJP, Souza Sobrinho F and Davide LC (2014) Obtaining tetraploid plants of ruzigrass (*Brachiaria ruziziensis*). **R. Bras. Zootec.** 43(3): 127-131.
- Trindade JKD, Silva SC da, Souza Júnior SJ de, Giacomini AA, Zeferino CV, Guarda VDA and Carvalho PC de F (2007) Composição morfológica da forragem consumida por bovinos de corte durante o rebaixamento do capim-marandu submetido a estratégias de pastejo rotativo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 42(6): 883-890.
- Valério JR (2009) **Cigarrinhas-das-pastagens**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 51 p. (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 179).
- Valle CB do (1986) Cytology, mode of reproduction and forage quality of selected species of *Brachiaria* Griseb. 90 p. Tese (Ph.D) - University of Illinois
- Valle CB and Savidan YH (1996) Genetics, cytogenetics, and reproductive biology of *Brachiaria*. In: Miles JW, Maass BL, Valle CB (eds) ***Brachiaria: biology, agronomy, and improvement***. CIAT/Embrapa, Colombia, pp 147-163.
- Valle CB do (1990) **Coleção de germoplasma de espécies de *Brachiaria* no CIAT: estudos básicos visando ao melhoramento genético**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 33 p. (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 46).
- Valle CB do and Pagliarini MS (2009) Biology, cytogenetics, and breeding of *Brachiaria*. In: Singh RJ (ed) **Genetics resources, chromosome engineering, and crop improvement**. v. 5. CRC Press, Boca Raton. pp 103-151.
- Valle CB do, Jank L and Resende RMS (2009) O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. **Revista Ceres** 56(4): 460-472.
- Valle CB do, Euclides VPB, Montagner DB, Valério JR, Fernandes CD, Macedo MCM, Verzignassi JR and Machado LAZ (2013) BRS Paiaguás: A new *Brachiaria* (*Urochloa*) cultivar for tropical pastures in Brazil. **Tropical Grasslands – Forrajes Tropicales** 1: 121-122.
- Valle CB, Macedo MCM, Euclides VPB, Jank L and Resende RMS (2010) Gênero *Brachiaria*. In: Fonseca DM e Martuscello JA (eds) **Plantas Forrageiras**. Viçosa. Ed. UFV, pp 30-77.
- Valle CB, Simioni C, Resende RMS and Jank L (2008) Melhoramento genético de *Brachiaria*. In: Resende RMS, Valle CB, Jank L (eds) **Melhoramento de forrageiras tropicais**. Embrapa Gado de Corte, Campo Grande. pp 13-53.
- Van Soest PJ (1994) **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed. Ithaca. New York: Cornell University Press.
- Vencovsky R (1987) Herança quantitativa. In: Paterniani E, Viegas GP (ed.). **Melhoramento e produção de milho**. Campinas: Fundação Cargill, v.1, p. 137-212.

World Bank (2011) **Indicadores do desenvolvimento mundial**. Ranking de país pelo percentual da terra agricultável. <http://data.worldbank.org/products/wdi>

Worthington ML and Miles JW (2015) Reciprocal full-sib recurrent selection and tools for accelerating genetic gain in apomictic *Brachiaria*. In: Budak H, Spangenberg G (eds), **Molecular Breeding of Forage and Turf**. Springer International Publishing Switzerland. pp 19-30.

Zimmer AR, Euclides VPB and Macedo MCM (1988). **Manejo de plantas forrageiras do gênero *Brachiaria***. In: Simpósio sobre Manejo de Pastagem. Piracicaba. Anais do simpósio sobre manejo de pastagem. Piracicaba: FEALQ, 1988. p. 141-183.

## TRABALHOS CIENTÍFICOS

### CAPÍTULO 1

#### **Genetic evaluation and selection index in tetraploid *Brachiaria ruziziensis***

Rosangela Maria Simeão, Adriane Schio Silva, Cacilda Borges do Valle, Marcos Deon Vilela  
de Resende

R.M. Simeão (corresponding author) and C.B. Valle  
Embrapa Beef Cattle, Radio Maia Avenue, 830, Zona Rural, Campo Grande, MS, Brazil  
e-mail: rosangela.simeao@embrapa.br

M.D.V. Resende  
Embrapa Forests, BP 319, Colombo, PR, Brazil

A.S. Silva  
Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, MS, Brazil

## Abstract

Half-sib progenies of congo signal grass (*Brachiaria ruziziensis* Germain & Evrard, syn.: *B. eminii*, *Urochloa ruziziensis*) were analyzed using a mixed model methodology, with the objective of estimating genetic and phenotypic parameters, predicting individual genetic values, estimating correlations between traits associated with biomass production and forage nutritive value and use this information to determine economic weights to compare five multiplicative selection indexes. Individual narrow-sense heritabilities, corrected for inbreeding varied from 0.14 to 0.91 for traits associated to biomass production and from 0.04 a 0.24 for nutritional value traits. The correlations amongst traits associated to annual biomass production and also of those with digestibility and cellulose content were of high magnitude. In contrast, biomass production traits were negatively correlated with crude protein, acid detergent fiber and lignin. Total dry matter yield, crude protein and regrowth ability were weighted separately in evaluations during wet and dry season or annually in selection indexes. There was no advantage in separately weighting wet and dry season traits for the indexes in terms of overall selection gain. Indexes that considered traits annually resulted in better distribution of forage production along the year than indexes that separated wet and dry season production. After using two selection differentials, selected individuals will be used in controlled crosses with apomictic species of *Brachiaria* and also in intraspecific crosses in a new breeding cycle.

**Keywords:** forage grass, genetic parameters, mixed model, nutritional value, progeny test

## Abbreviations

BLUP	Best linear unbiased predictor
REML	Restricted maximum likelihood
GM	Green matter
TDMY	Total dry matter yield
LDMY	Foliar dry matter yield
SDMY	Stem dry matter yield
CP	Crude protein
NIRS	Near infrared spectroscopy
NDF	Neutral detergent fiber
ADF	Acid detergent fiber
Lig	Lignin
IVOMD	<i>In vitro</i> organic matter digestibility
Sil	Silica
PEV	Prediction error variance
LRT	Likelihood ratio test
PTDPR	Production of total digestible protein in regrowth

## Introduction

Species of *Brachiaria* are cultivated in over 90% of the pasture area in tropical Brazil, which amounts to about 100 million hectares. Breeding of some species from this genus started in the 1980s in Brazil, based on the evaluation and phenotypic selection of natural ecotypes, collected and introduced from Africa (Valle et al. 2008). Several cultivars have been obtained by this method (Valle et al. 2008; Jank et al. 2014), which was successful and simplified by the presence of apomixis, i.e. asexual reproduction by means of seeds, in *Brachiaria brizantha* (syn. *Urochloa brizantha*), *B. decumbens* (syn. *U. decumbens*) and *B. humidicola* (syn. *U. humidicola*) species (Euclides et al. 2010; Jank et al. 2014), also by high broad sense heritability in agronomic traits (Resende et al. 2007; Basso et al. 2009).

However, *Brachiaria* forage breeders admit that the cultivars commercially available have limitations in terms of productivity, nutritional value and resistance to pests which can be improved by breeding (Miles 2007). To amplify this genetic variability recombination is necessary but apomixis impairs intercrossing of apomictic individuals. Therefore, the alternative is to use apomictic individuals as pollen donors in crosses with compatible sexual plants.

Crosses may be intra or interspecific since three very important species in this genus *B. brizantha*, *B. decumbens* e *B. ruziziensis* belong to the same agamic complex and produce viable and fertile hybrids (Valle et al. 2008). Autotetraploid sexual plants of *B. ruziziensis* (Swenne et al. 1981), *B. brizantha* (Pinheiro et al. 2000; Araujo et al. 2005) and *B. decumbens* (Simioni and Valle 2009) which were produced from sexual diploids through colchicine were used in crosses, since natural compatible sexual tetraploids were not found in the germplasm (Savidan and Valle 1999).

Interspecific hybridization is highly advantageous since it can combine or complement species or cultivar-specific traits such as spittlebug resistance (Hemiptera: Cercopideae)

present in *B. brizantha* cv. Marandu, tolerance to acid soils of low fertility found in *B. decumbens* cv. Basilisk, and higher nutritional value found in *B. ruziziensis* into hybrids (Valle et al. 2010). Interspecific hybrids between *B. ruziziensis* x *B. decumbens* and *B. ruziziensis* x *B. brizantha* have been analyzed to estimate genetic parameters and selection using mixed models (Resende et al. 2007) and also for meiotic abnormalities (Valle and Pagliarini 2009; Felismino et al. 2011; Pagliarini et al. 2012).

In order to explore the potential of interspecific hybrids, including heterosis, the ideal strategy is to use reciprocal recurrent selection (Resende et al. 2008). Even if recombination is not feasible in the apomictic population, the sexual one should be improved as a function of the apomictic population, that is, of the apomictic individuals in crosses (Resende 2002a; Miles 2007). The experimental evaluation of the sexual population using progeny tests aims to estimate or predict the genetic values of individuals, therefore, statistical methods and quantitative genetic techniques must be used. The statistical modeling of complex quantitative traits yields important information about the environmental effects on the phenotypes and allows for the prediction of phenotypes not yet observed and should be pursued as accurately as possible (Resende et al. 2008). Genetic parameters such as heritability, repeatability and genetic correlations are essential for establishing efficient breeding strategies especially for forage species (Hayes et al. 2013) but these are still unknown in *B. ruziziensis* for traits of agronomic importance used as selection criteria.

Field experimentation with perennial species is frequently associated with unbalanced data due to losses of plants and plots, or to different amounts of seeds or clippings available per treatment, amongst other events. Thus, the best approach to evaluate genotypic value is to use REML/BLUP (Restricted or residual maximum likelihood/best linear unbiased prediction), also commonly called mixed models methodology. These procedures take into



account unbalanced data and estimate genetic parameters and genetic values with greater precision (Resende 2002a; Resende et al. 2013).

For breeding purposes, the question after the prioritization of individuals based on their genetic values is to give effective economic weights to different traits, in order to perform a multi character selection that results in simultaneous genetic gains and at the same time economically impact the productive sector. Currently, the alternative used in the selection has been to adopt procedures without assigning true economic weights to genetic values for the traits in selection indices. The use of a selection index weighting agronomic traits of biomass production separately for periods of greater and lesser rainfall during the year has been adopted for tropical forages (Resende 2007; Figueiredo et al. 2012). This procedure was then followed by a stage of selection based on a second index incorporating the nutritional traits (Forbes et al. 2012) as an *en tandem* selection. Smith and Fennessy (2014) have defined weights to contemplate total dry matter production as a function of the region and of the season. Resende (2007) proposed a character named production of total digestible protein in regrowth (PTDPR) from the traits generally evaluated during the trial for the purpose of breeding forages. In this case, the proper determination of the economic weights of traits for composition of selection indices must be based on the genetic correlations between the various traits and PTDPR. The comparison of selection indices with potential use in the breeding of tropical forages has not been made yet. Also, the efficiency of use of economic weights as well as of balancing of traits in indices to obtain greater gains in the breeding was not evaluated.

According to Smith et al. (2014), the economic benefit of using a new cultivar in pastures should consider three factors: i. increase in production of dry matter harvested; ii. increase in nutritive value of additional harvest dry matter yield and iii. additional costs associated with planting a new cultivar, such as seed, fertilizer and, maintenance cost among

others. Scott et al. (2000) stated that the most profitable pasture options maintain reasonably high stocking rates for long periods. For tropical forages, the long period certainly means high stocking rates during both the wet and dry seasons.

Pasture trials, which frequently occur as at the end of the selection process in the breeding of tropical forages (Valle et al. 2008; Jank et al. 2014), provide direct evidences of the actual value of the new genotype (cultivar-candidate) since they determine animal performance. For example, the impact of a new *B. brizantha* genotype in the animal production system was done by Euclides et al. (2009) for *B. brizantha*. However, since pasture trials are carried out after many years of selection and a strong narrowing of genetic basis, i. e, after high selection intensity imposed on traits determined by the breeder, the results do not carry information on economic value of individual traits to give feedback to the selection criteria for the breeding program. One can expect that these criteria be different amongst forage species as a function of the breeding objectives and locations where the cultivar will be planted.

Based on these premises, in the first cycle of intrapopulacional selection in *B. ruziziensis*, half-sib progenies were analyzed using mixed models, with the following objectives: i. to estimate genetic and phenotypic parameters, ii. to predict genetic values for all traits evaluated, iii. to estimate the correlation amongst traits associated to biomass production and those associates to nutritional value of the forage and iv. to use and evaluate the relative efficiency of selection indices to obtain gains in several traits simultaneously.

## **Material and Methods**

### **Plant material and phenotypic evaluation**

An experimental area was formed in 2010 to obtain open pollination progenies of sexual tetraploid *B. ruziziensis* at Embrapa Beef Cattle, in Campo Grande, MS, with 20°28' of South latitude, 55°40' West longitude, and 530 m of altitude. Field soil was classified as Haplic Ferralsol (Rhodic) (FAO 2006). The climate, according to Köppen's classification is Aw, humid tropics, with rainy summers and dry winters.

The experiment was set with 140 plants, 20 plants of each of the seven sexual tetraploid *B. ruziziensis* accessions: R30, R38, R41, R44, R46, R47 and R50. The individual plants were randomized in 26 lines and 12 columns, spaced 2 m x 2 m apart. The experimental area was isolated with elephant grass (*Pennisetum purpureum*) planted in lines, to deter pollen contamination of other *Brachiaria* from adjacent areas, since species from this genus are anemophilous. The flowering period and seed production was monitored during the whole first semester of 2011. The seeds were collected weekly in individual plants and processed according to Simeão et al. (2012). Of the 140 plants, 59 were selected to compose the progenies of the breeding population, based on the individual information of viable seed production and flowering synchrony. Thus, a selection of the genitors was done prior to the progeny testing.

For the evaluation of the 59 *B. ruziziensis* progenies, 20 seedlings were produced per genitor totaling 1180 individuals. The experiment was planted in November 2012, in a randomized block design with 20 replications and one plant per plot, spaced 1.5 m x 1.5 m. Nine clippings at 15 cm height were done: 1 – Jan 29/13; 2 – March 4 and 5/13; 3 – April 2/13; 4 – May 2/13; 5 – Sept 10 and 11/13; 6 – Oct 9/13; 7 – Nov 13/13; 8 – Dec 16/13; 9 – Jan 22/14.

Clippings 2, 3, 7, 8 and 9 were done during periods of average monthly precipitation of 168.32 mm, therefore wet season, while clippings 4, 5 and 6, with 61.13 mm per month were

considered dry season. Clipping 1 was considered establishment and not included in the analysis.

The traits evaluated for all clippings were: green matter yield (GM), total dry matter yield (TDMY) and regrowth. In clippings 2 and 5 morphological separation into leaves, stems and dead material was done for a sample of about 200 g per plant. With this information it was possible to estimate leaf dry matter yield (LDMY) and stems dry matter yield (SDMY), as well as their proportion in individual plants. Regrowth score varied from 0 to 6 and were obtained with a combination of density and rate of regrowth visually estimated as described by Figueiredo et al. (2012).

Ground samples from clipping 2 were analyzed using near infrared spectroscopy (NIRS) (Marten et al. 1985). Van Soest's (1994) sequential method was used to estimate fiber components which are associated to forage nutritional value. Total fiber components (neutral detergent fiber, NDF), lignocelluloses (acid detergent fiber, ADF), cellulose (Cel) and lignin via sulphuric acid (Lig S) and lignin via permanganate (Lig P), and also crude protein (CP) and silica (Sil). For this work the variables ADF, Cel, Lig S and Lig P were used as a proportion of NDF so as to characterize value of fiber more than just to estimate absolute values of these components. *In vitro* organic matter digestibility (IVOMD) was also estimated which represents the potential degradation of fiber in ruminants and it is also useful as a value index of the biomass (Gouy et al. 2013).

### **Statistical Methods**

All univariate analyzes were done using linear mixed models. The following statistical model was used for the analyses of nutritional value traits (NDF and proportions of ADF, Lig S, Lig P, Cel, PB, Sil):

$y = Xr + Za + e$ , where  $y$  is the data vector,  $r$  is the vector for repetition effects (fixed) added to the general mean,  $a$  is the vector of individual additive genetic effects (random),  $e$  is the

random residual vector. Capital letters represent the incidence matrices for the mentioned effects. Narrow sense individual heritability ( $h_a^2$ ) was estimated considering a correction to the coefficient of relationship by Wright (Resende, 2002a), due to the proportion of 1/7 of crosses among related individuals yielding offspring of the seven initial genitors which originated the 59 progenies. The selective accuracy was estimated according to Resende (2002a), based on the prediction error variance (PEV), via elements of the reverse matrix of the equations coefficients of the mixed model. PEV is related to accuracy through the equation:  $\hat{r}_{aa} = (1 - PEV / \sigma_a^2)^{1/2}$  where  $\sigma_a^2$  is the genetic variation among progenies under evaluation. The genetic correlation between these traits was estimated as (Falconer and Mackay 1996):  $r_a = \text{cov}_{a(x,y)} / \sigma_{ax} \sigma_{ay}$ , where  $\text{cov}_{a(x,y)}$  is the additive genetic covariance between  $x$  and  $y$ ;  $\sigma_{ax}$  and  $\sigma_{ay}$  are the additive genetic standard deviations for  $x$  and  $y$ , respectively.

Agronomic traits (GM, TDMY, LDMY and SDMY, in g per plant, and regrowth) were analyzed initially for each clipping to evaluate variance heterogeneity among clippings, using the same model as for the analyses of nutritional value traits. The determination of heterogeneity of the variances per clipping was obtained based on Hartley's test. For the traits where the heterogeneity of the residual variance was significant, the data ( $y$ ) were corrected according to Resende (2007), where  $y_c = y(h_{ik} / \bar{h}_i)$  in which  $h_{ik}$  and  $\bar{h}_i$  are the square root of the heritability of the character in clipping  $k$  and the square root of the average heritability of all the clippings.

In the simultaneous analyzes of all clippings in each season the following model was used:

$y = Xm + Za + Wp + Qi + Ts + e$ , where  $y$  is the data vector,  $m$  is the vector of the combination clipping – repetition effects (fixed) added to the general mean,  $a$  is the individual additive

genetic effects vector (random),  $p$  is the plot effect vector (random),  $i$  is the interaction individual x clipping effect (random),  $s$  is the permanent effect vector (random) and  $e$  is the residual random vector. Capital letters represent the incidence matrices for the mentioned effects. The following genetic parameters were estimated: (i) individual narrow sense heritability ( $h_a^2$ ) corrected for inbreeding as before, (ii) repeatability or intraclass correlation between repeated measures in the same individual ( $\rho = (\sigma_g^2 + \sigma_{ep}^2) / \sigma_y^2$ , where  $\sigma_g^2$ ,  $\sigma_{ep}^2$  and  $\sigma_y^2$  are the genetic variances, the permanent environmental variance, and phenotypical variance, respectively) (Falconer and Mackay 1996), (iii) mean genetic correlation through clippings ( $\bar{r}_{acut}$ ), (iv) individual additive genetic variation coefficient ( $CV_{gi} = \sigma_a / m$ , where  $m$  is the general mean of the experiment), (v) genetic variation coefficient between progenies ( $CV_{gp} = \sigma_{ap} / m$ ) and (vi) relative variation coefficient ( $CV_r = CV_{gp} / CV_e$ , where  $CV_e$  is the environmental variation coefficient per clipping). Genetic correlations among traits were estimated as before.

The statistics of deviance was used for the tests of hypotheses of the genetic effects. The adjustment of different statistical models to the data was tested using the test of Wilks (*Likelihood Ratio Test* - LRT) (Dobson 1990; Resende 2007). All the statistical analyses were performed with the aid of the computational program in genetics and statistics Selegen - REML/BLUP (Resende 2002b; Colombari-Filho et al. 2013).

The individuals were ranked based of their genetic values for each character. For the simultaneous selection for the traits five indices were used and compared, which considered the total dry matter production per plant (TDMY), regrowth capacity and crude protein (CP) in the periods of greater and lesser rainfall, and the annual production. The indices were:

- 1) Multiplicative index weighing the target traits as 0.5 in the rainy season and 0.5 in the dry season

$$I_1 = (\text{wet season TDMY} * \text{Regrowth} * \text{CP}) * 0.5 + (\text{dry season TDMY} * \text{Regrowth}) * 0.5$$

- 2) Multiplicative index weighing the target traits as 0.7 in the rainy season and 0.3 in the dry season, considering that this is the expected distribution of biomass production for *Brachiaria* spp. according to Euclides et al. (2007) and Valle et al. (2008).

$$I_2 = (\text{wet season TDMY} * \text{Regrowth} * \text{CP}) * 0.7 + (\text{dry season TDMY} * \text{Regrowth}) * 0.3$$

- 3) Annual multiplicative index:

$$I_3 = \text{Annual TDMY} * \text{Regrowth} * \text{CP}$$

For indices 4 and 5 an objective selection character named production of total digestible protein in regrowth was created (acronym PT DPR), PT DPR4 and PT DPR5, in selection indexes 4 and 5, respectively.

- 4) Multiplicative index for the traits evaluated separately during wet and dry season where the weights for genetic values for each character used to compose was (economic weight - i) according to Resende (2007):

$$i_j = (\text{correlation (character } j, \text{ PT DPR4)}) / (\text{sum of correlations of traits and PT DPR4}), \text{ in which:}$$

$$\text{PT DPR4} = (\text{TDMY wet} * \text{CP wet} * \text{Regrowth wet}) + (\text{TDMY dry} * \text{Regrowth dry}),$$

And selection index:

$$I_4 = (\text{TDMY wet})_{i_1} + (\text{Regrowth wet})_{i_2} + (\text{TDMY dry})_{i_3} + (\text{Regrowth dry})_{i_4} + (\text{CP wet})_{i_5}$$

- 5) Multiplicative index for the traits annually where the genetic value weights for each character used to compose was (economic weight - i) according to Resende (2007):

$$i_j = (\text{correlation (character } j, \text{ PT DPR5)}) / (\text{sum of correlations of traits and PT DPR5}), \text{ in which:}$$

$$\text{PT DPR5} = (\text{TDMY annual} * \text{CP} * \text{Regrowth annual}),$$

And selection index:

$$I_5 = (\text{TDMY annual})_{i_6} + (\text{Regrowth annual})_{i_7} + (\text{CP})_{i_8}$$

The individuals were selected based on their rank in each index. Selection intensities used were 0.01% and 0.05%, aiming to compose the elite population for crossing with selected apomictic individuals of *B. brizantha* and *B. decumbens* and to compose the breeding population of *B. ruziziensis*, respectively. The relative efficiency of selection for each index and for each character was estimated dividing the mean of the selected individuals for each character using that index, by the general mean of the character in the population. In order to establish graphic representation of individuals selected at 1% selection differential breeding values of the traits were standardized (Nunes et al. 2005; Figueiredo et al. 2012).

## Results and Discussion

*B. ruziziensis* progenies presented higher percentage of crude protein, higher digestibility, lower NDF and lignin S concentration (Table 1) than *B. brizantha* cv Marandu and *B. decumbens* cv. Basilisk (Euclides et al. 2007), both evaluated in the same region, season and based on leaf dry matter. This information corroborates the superior nutritional value of this grass and its potential contribution to improve apomictic species by hybridization.

High amplitude of genetic variation was observed for the evaluated traits. For all traits, except NDF and IVDMD, genetic variance was significantly higher than zero ( $p < 0.01$ ) based on LRT (Table 1). The narrow sense heritabilities, corrected for inbreeding varied from 0.14 to 0.91 for the agronomic traits and from 0.04 to 0.24 for the nutritional value traits. The coefficients of genetic variation between individuals (CV<sub>gi</sub>) and progenies (CV<sub>gp</sub>) revealed marked difference among traits: SDMY during wet season, regrowth during wet and dry



seasons. Nutritional value traits showed the smallest magnitude (below 16%) for these parameters. Agronomic traits in general presented greater genetic variation (>40%), meaning higher genetic variation available for selection in biomass yield than traits of nutritional value in this forage grass. The goal for high magnitude of accuracy (>85%) was attained for agronomic traits, despite of the fact that the genetic variation coefficients were lower than 1.0. This result could be due to the high number of replications used in the experiment, since accuracy and number of replications are interconnected (Resende and Duarte 2007). This statement could not be extended to the nutritional value traits, due to the smaller genetic variability expressed in the progenies evaluated.

Repeatability coefficients estimated for TDM yield during wet and dry seasons presented moderate magnitude. Repeatability was previously estimated in clones of *Brachiaria* hybrids and the magnitude was inferior to those presently obtained (Resende et al. 2007). Considering the amplitude of repeatability obtained the number of clippings necessary to obtain high selective accuracy varied from 3 to 7, a result that corroborates previous studies with perennial forages, which indicated about 5 to 7 clippings as sufficient for accurate selection (Casler 1999; Shimoya et al. 2002; Figueiredo et al. 2012).

The genotype x clipping interaction was significant and the inverse of its variance is related to the magnitude of the correlation ( $\bar{r}_{cut}$ ) amongst the several evaluations, a parameter of real interest and with an applicable information to breeding. The moderate magnitudes found for  $\bar{r}_{cut}$  in the sequential evaluations in *B. ruziziensis* indicate a coincidence of approximately 60% of the best individuals in all clippings and furthermore, that the character is not genetically the same from one clipping to the next (Falconer and Mackay 1996). Therefore, the inclusion of the effect of the genotype x clipping interaction in the repeatability was appropriate to demonstrate that.

There are two assumptions for the estimate of repeatability according to Falconer and Mackay (1996) and Resende (2002b). The first is that the variances of the different evaluations be equal and that their components have the same proportion. This assumption was met in the analysis since the heterogeneities of variances among evaluations were considered and corrected. The second assumption of repeatability is that the different measurements genetically reflect the same trait, so that the genetic correlation between traits, in this case the same character evaluated in sequential measurements, is close to 1.0. In this case, genetic correlations between traits were estimated, treating the traits evaluated during the rainy and the dry seasons as different (Table 2).

Genetic correlations of high magnitude were observed between GM, TDMY, LDMY and regrowth evaluated during the wet and dry season (Table 2). Stem dry matter yield in both seasons presented low or non-significant genetic correlation with all other traits, either in the wet or the dry season. Furthermore, there was higher correlation of LDMY with other production traits (TDMY, GM and regrowth) in the same season than with its own estimate on both seasons ( $r_A = 0.54$  – Table 2). Even worse is the lack of correlation between the phenotypic expression for SDMY ( $r_A = 0.12$ ) in both seasons, which indicates that the genic expression is different in the two periods. According to Falconer and Mackay (1996), the genetic correlation between traits should be looked upon with care since it is subjected to large experimental errors and are rarely very precise and furthermore, differ markedly in different populations. Therefore, the correlation estimates for this *B. ruziziensis* population should not be extended to other populations of the same species or of other species of forage grasses. However, since this population of *B. ruziziensis* is the breeding population available, all parameters presently estimated should be used to decide upon selection.

Genetic correlations were also estimated for annual agronomic as well as nutritional value traits (Table 3). All the correlations between annual agronomic traits (GM, TDMY,

LDMY, SDMY and regrowth) were of high magnitude. All biomass components were negatively correlated with the crude protein content (CP), with the proportions of ADF, lignin (P and S) and silica, and positively with IVOMD and cellulose. Thus, the selection for biomass production will result in a positive correlated response in the amount of cellulose and negative for CP, ADF and lignin.

The improvement of *B. ruziziensis* in the context of this experimentation does not particularly target increases in its economic value towards producing a new cultivar, but to identify genitors of high productivity and nutritional value to hybridize with *B. brizantha* and *B. decumbens*, both apomicts. This type of interspecific crossings seeks to combine main forage traits such as biomass production, high protein and digestibility and high resistance to pests, especially pasture spittlebugs.

In pastures of *B. decumbens* and *B. brizantha* animal performance during the dry season is many times unsatisfactory, mostly because of protein deficiency (Euclides et al. 2007). Crude protein content in *Brachiaria* cultivars, even in the wet season, is lower than presently quantified for *B. ruziziensis* (Euclides and Medeiros 2003). Therefore, the contributions of *B. ruziziensis* towards hybrids with higher protein content in the breeding of *Brachiaria* are fundamental. However, the negative correlation between crude protein levels and traits of forage production must be adequately pondered in the selection of genitors so as to get genetic gains for both traits.

Breeding involves constant decision making, either in the choice of method, in the selection of individuals for the final objective or in the use of these individuals in subsequent cycles, always considering the effective population size so as to assure long time gains. In reciprocal recurrent selection in *Brachiaria*, the choice should be made based on combining capacity of the selected individuals of tetraploid sexual *B. ruziziensis* in crosses with elite apomictic individuals of the other species of the agamic complex. The high number of

*B. ruziziensis* individuals evaluated in this first selection cycle required as a strategy, selection based only on individual genetic values, thus exploring only the additive genetic variance of the candidates. Furthermore, in order to avoid a narrowing of the genetic basis of the sexual population, selection with two intensity levels was adopted: the 5% top individuals in the population were selected to begin the second cycle of intrapopulational breeding and the top 1% within these 5%, were selected to use in crosses with elite apomicts in disconnected factorial or incomplete diallel mating designs, so as to estimate general and specific combining ability and associated parameters to promote new selection.

There are a number of objective and specific criteria in forage breeding which demands selection methods that provide simultaneous gains in several traits of interest. The best procedure of selection will be one that uses all available information of individual breeding values combined into an index of merit (Falconer and Mackay 1996; Bernardo 2010) for the multiple traits adopted as selection criteria (Resende 2002a). The economic value of a forage depends on more than one character, and their mode of inheritance and the correlation between them, as well the economic importance of each trait (dry matter yield, value, persistency) and its impact on production must be considered (McEvoy et al. 2011; Chapman et al. 2012). For the estimation of the index of merit, the traits with the greatest impact on economic performance in the production system must be considered (McEvoy et al. 2011) and the feasibility of its use depends, of course, on the ease with which these can be measured (Wilkins and Humphreys 2003) in many individuals with different genotypes.

Studies to define economic weights in selection in temperate forage species have advanced notoriously. Index models may include seasonal and monthly estimated dry matter yield, silage dry matter digestibility, yield and persistency (McEvoy et al. 2011), or consider only dry matter yield in different seasons (Chapman et al. 2012; Smith et al. 2014). Interestingly, those models were generally developed for a few cultivars which simplify the

implementation in large size breeding populations where the model is well defined. Selection indexes using economic weights are unknown in tropical forages. In *B. brizantha*, despite the differences between cultivars in terms of animal response in average daily gain and carrying capacity, during dry period of the year (Valle et al. 2013), little is known about specific forage character contributing to this difference.

Selection indexes can be applied even without knowledge of the economic weights. According to Resende et al. (2008), in general, the ultimate goal in forage breeding is the production of total digestible protein on regrowth, PTDPR. Therefore, to compose PTDPR for *B. ruziziensis*, we considered total dry matter production - either annual or separated in wet and dry season, crude protein content and capacity for regrowth. The character *in vitro* organic matter digestibility was not used since there was no genetic variability in the population examined.

Selection indexes were evaluated based on five expressions and their results can be compared on the basis of the relative gain in each of the agronomic traits and crude protein, including the gain with indirect selection on agronomic traits that do not compose the index (Table 4). The first three indexes consider the effects of selection on the traits evaluated separately in the wet or dry season in comparison with the index using the annual evaluation (third index). Traits in the first index were weighted equally for the production in both seasons; the second index was established according to what is generally observed in terms of annual distribution of forage production in tropical region in Brazil, i.e. 70% during the wet season and 30% in the dry season. Criteria were combined together into a score in the third index named annual multiplicative index.

The results show that there is no advantage in separating the traits evaluated in the two seasons, as if they were different traits, in terms of average gain for all traits, even if allocating different weights for each season. In addition, with 1% selection differential,

exactly the same individuals were selected in the indices 1 and 2 (Figure 1). The first two indexes selected individuals which had higher TDMY in the wet season, because of their higher mean and larger weights, in detriment of TDMY in the dry season, unlike the multiplicative annual index that selected individuals with high TDMY in the dry season and with TDMY on the average during the wet season (Figure 1-individual 1022). First and second indexes resulted in higher LDMY in the wet season than the third index, at 1% and 5% selection differential, but were not superior when the target character is annual LDMY (Table 4).

Economic weights based on correlations between criteria and PT DPR was adopted in the fourth and fifth indexes. There was no relative gain advantage between fourth and fifth index at 5% selection differential. In contrast, relative gain in annual multiplicative weighted index was superior to all indexes studied at 1% selection differential, on average (Table 4).

Comparing all five selection indexes there are differences among individuals selected by each one so that only five individuals were common to all indexes evaluated at 1% selection differential (Figure 1). Selection indexes 3, 4 and 5 resulted in higher selection gains and were able to distribute forage yield equitably between wet and dry season, on average. This effect was achieved by selecting individuals with high TDMY during the dry season (individuals 1022, 605 and 1084) as well as individuals with better distribution of yield in both seasons (individuals 3, 563, 840 and 379).

Better distribution of wet and dry seasons yield in tropical forages is a longtime demand of livestock producers, mostly in central Brazil where animals are bred and finished under grazing. Average daily gain and carrying capacity are both improved when a grass cultivar presents higher yield during the whole growing season in comparison with a grass cultivar that concentrates its production in the wet season (Valle et al. 2013). Selection indexes 3, 4 and 5 have shown plenty of opportunities in *B. ruziziensis*, in terms of genetic variability

available for selection and production gain at the same time during wet and dry seasons. Most important is to be able to detect this genetic variability early and use it in future cycles of breeding, without narrowing the genetic base available for the species improvement. These results obtained in *B. ruziziensis* must be investigated for other tropical forage species.

All traits resulted in up to 28% gain in relation to the population average, except for crude protein. Amplitude for wet season crude protein was of 15.68% to 17.01% in this *B. ruziziensis* population. However, no selection gain was obtained for crude protein with none of the selection indexes applied. This result was expected given the high negative genetic correlation between CP and the traits of biomass production. Even so, the average genetic values for CP in all indexes are superior to phenotypic averages shown for most tropical forage cultivars available commercially (Euclides and Medeiros 2003).

The importance of the use of selection indexes was to provide the balancing of traits as selection criteria for obtaining the best results in the ultimate goal of improving *B. ruziziensis*. Thus, individuals who will compose the next selection cycle meet two essential conditions for breeding success: the presence of genetic variability and high average on several important traits. Based on the results of the rankings of individuals by each index, the wide genetic variability will allow direct selection aiming at gains in specific traits and achieve better distribution of forage production during the year (Figure 1).

Final result of selection indexes use certainly will depend on economic advantage contribution of important agronomic traits and the distribution of this production in periods of higher and lower annual rainfall. Some questions still must be answered considering the distribution of forage production over the periods of higher and lower annual rainfall. According to our hypothesis, there are economic advantages in greater forage production throughout the year while maintaining the same capacity of annual support and gain weight more evenly distributed than its concentration in the period of highest rainfall. The expression

of these traits in hybrids still need to be investigated. The answer to this and other issues are still unknown when it comes to tropical forages which improvement is still in its infancy and for livestock production system that are quite different from temperate forage ones.

What is clear in this work is that the economic weights are just one of the components of a selection index and should be combined with the knowledge of mode of inheritance of the traits through heritability and repeatability, as well as the genetic correlations between them, in decision-making on the best selection criteria. This work has contributed with essential information to the second part component of an index, and to the discussion on the first one. The validation of efficiency of such selection procedures is still necessary.

### **Acknowledgments**

To the Brazilian Enterprise for Agricultural Research (Embrapa), to the Association for the Promotion of Research on Tropical Forage Breeding (UNIPASTO) and to the Catholic University Dom Bosco (UCDB).

### **References**

- Araújo ACG, Nóbrega JM, Pozzobon MT, Carneiro VTC (2005) Evidence of sexuality in induced tetraploids of *Brachiaria brizantha* (Poaceae). *Euphytica* 144: 39- 50
- Basso KC, Resende RMS, Valle CB, Gonçalves MC, Lempp B (2009) *Brachiaria brizantha* Stapf access evaluation and estimates of genetic parameters for agronomical traits. *Acta Scientiarum Agronomy* 31: 17-22
- Bernardo R (2010) Breeding for quantitative traits in plants. Stemma Press, Minnesota
- Casler MD (1999) Repeated measures vs. repeated plantings in perennial forage grass trials: an empirical analysis of precision and accuracy. *Euphytica* 105: 33-42



- Chapman DF, Bryant, JR, McMillan, WH, Khaembah EN (2012) Economic values for evaluating pasture plant traits. *Proceed of the New Zealand Grassland Assoc* 74: 209-216
- Colombari-Filho JM, Resende MDV, Morais OP, Castro AP, Guimarães EP, Pereira JA, Utumi MM, Breseghello F (2013) Upland rice breeding in Brazil: a simultaneous genotypic evaluation of stability, adaptability and grain yield. *Euphytica* 192:117–129
- Dobson AJ (1990) *An introduction to generalized linear models*. Chapman & Hall, Melbourne
- Euclides VPB, Valle CB, Macedo MCM, Almeida RG, Montagner DB, Barbosa RA (2010) Brazilian scientific progress in pasture research during the first decade of XXI century. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39: 151-168
- Euclides VPB, Flores R, Medeiros RN, Oliveira MP (2007) Deferred pastures of *Brachiaria* cultivars Basilisk and Marandu, in the Cerrados region. *Pesq. Agropec. Bras.* 42: 273-280
- Euclides VPB, Macedo MCM, Valle CB, Difante GS, Barbosa RA, Cacere ER (2009) Valor nutritivo da forragem e produção animal em pastagens de *Brachiaria brizantha*. *Pesq. Agropec. Bras.* 44: 98-106
- Euclides VPB, Medeiros SR (2003) Valor nutritivo das principais gramíneas cultivadas no Brasil. Embrapa Gado de Corte, Campo Grande
- Falconer DS, Mackay TFC (1996) *Introduction to quantitative genetics*. Longman, Harlow
- FAO (2006) World reference base for soil resources 2006  
<ftp://ftp.fao.org/agl/agll/docs/wsrr103e.pdf>.
- Felismino MF, Pagliarini MS, Valle CB, Resende RMS (2011) Meiotic stability in two interspecific hybrids of *Brachiaria* (Poaceae). *Plant Breeding* 131: 402-408

- Figueiredo UJ, Nunes JAR, Valle CB (2012) Estimation of genetic parameters and selection of *Brachiaria humidicola* progenies using a selection index. *Crop Breed and Appl Biotech* 12: 237-244
- Gouy M, Rousselle Y, Bastianelli D, Lecomte P, Bonnal L, Roques D, Efile J-C, Rocher S, Daugrois J, Toubi L, Nabeneza S, Hervouet C, Telismart H, Denis M, Thong-Chane A, Glaszmann JC, Hoarau J-Y, Nibouche S, Costet L (2013) Experimental assessment of the accuracy of genomic selection in sugarcane. *Theor Appl Genet* 126: 2575-2586
- Hayes BJ, Cogan NOI, Pembleton LW, Goddard ME, Wang J, Spangenberg GC, Forster JW (2013) Prospects for genomic selection in forage plant species. *Plant Breed* 132:133–143
- Jank L, Barrios SC, Valle CB, Simeão RM, Alves GF (2014) The value of improved pastures to Brazilian beef production. *Crop and Pasture Sci* 65: 1132-1137
- Marten GC, Shenk JS, Barton II FE (1985) Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS), analysis value. USDA, Washington, DC
- McEvoy M, O'Donovan M, Shalloo L (2011) Development and application of an economic ranking index for perennial ryegrass cultivars. *J. Dairy Sci.* 94: 1627-1639
- Miles JW (2007) Apomixis for cultivar development in tropical grasses. *Crop Sci* 47: S238-S249
- Nunes JAR, Ramalho MAP, Abreu AFB (2005) Graphical method in studies of adaptability and stability of cultivars. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 48: 182-183
- Pagliarini MS, Vieira MLC, Valle CB (2012) Meiotic behavior in intra- and interspecific sexual and somatic polyploid hybrids of some tropical species. In: Swan A (ed) *Molecular mechanisms and cytogenetic diversity*. InTech,

<http://www.intechopen.com/books/howtoreference/meiosis-molecular-mechanisms-and-cytogenetic-diversity/meiotic-behavior-in-intra-and-interspecific-tetraploid-sexual-and-somatic-hybrids-of-some-tropical-s>

Pinheiro AA, Pozzobon MT, Valle CBDo, Penteado MIO, Carneiro VTC (2000) Duplication of the chromosome number of diploid *Brachiaria brizantha* plants using colchicine. Plant Cell Reports 19: 274 - 278

Resende MDV (2007) Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético. Embrapa Florestas, Colombo

Resende MDV, Duarte JB (2007) Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. Pesquisa Agropecuária Tropical 37: 182-194

Resende MDV (2002a) Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes. Informação Tecnológica, Brasília

Resende MDV (2002b) Software Selegen – REML/BLUP. Embrapa Florestas, Colombo

Resende MDV, Resende RMS, Jank L, Valle CB (2008) Experimentação e análise estatística no melhoramento de forrageiras. In: Resende RMS, Valle CB, Jank L (eds) Melhoramento de forrageiras tropicais. Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, pp 195-293

Resende RMS, Resende MDV, Valle CB, Jank L, Torres Jr RAA, Cançado LJ (2007) Selection efficiency in *Brachiaria* hybrids using a posteriori blocking. Crop Breed and Appl Biotech 7: 296-303

Resende RMS, Casler MD, Resende MDV (2013) Selection methods in forage breeding: a quantitative appraisal. Crop Sci. 53:1925–1936

- Savidan YH, Valle CB (1999) Amélioration génétique des graminées fourragère tropicales. In: Roberge G, Toutain B (eds) Cultures fourragères tropicales. CIRAD, Montpellier, pp 53-68
- Scott JF, Lodge GM, McCormick LH (2000) Economics of increasing the persistence of sown pastures: costs, stocking rate and cash flow. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 40: 313-323
- Shimoya A, Pereira AV, Ferreira RP, Cruz CD, Carneiro PCS (2002) Repetibilidade de características forrageiras do capim elefante. *Scientia Agricola* 59: 227-234
- Simeão RM, Valle CB, Alves GF, Moreira LDA, Silva DR, Araújo DF, Ferreira RCU, Barrios SCL, Jank L, Caramalac GR, Naka IM, Calixto S, Carvalho J (2012) Melhoramento de *Brachiaria ruziziensis* tetraploide sexual na Embrapa: métodos e avanços. Embrapa, Campo Grande. <http://old.cnpgc.embrapa.br/publicacoes/doc/DOC194.pdf>.
- Simioni C, Valle CB (2009) Chromosome duplication in *Brachiaria* (A.Rich.) Stapf allows intraspecific crosses. *Crop Breed and Appl Biotech* 9: 328 - 334.
- Smith KF, Fennessy PF (2014) Utilizing conjoint analysis to develop breeding objectives for the improvement of pastures species for contrasting environments when relative values of individual traits are difficult to assess. *Sustainable Agriculture Research* 3: 1-12.
- Smith KF, Ludemann C, Lewis CD, Malcolm B, Banks RG, Jacobs JL, Fennessy PF, Spangenberg GC (2014) Estimating the value of genetic gain in perennial pastures with emphasis on temperate species. *Crop and Pasture Science* 65: 1230-1237
- Swenne A, Louant B-P, Dujardin M (1981) Induction par la colchicine de formes autotétraploïdes chez *Brachiaria ruziziensis* Germain et Evrard (Graminée). *Agronomie Tropicale* 36: 134-141

- Valle CB, Macedo MCM, Euclides VPB, Jank L, Resende RMS (2010) Gênero *Brachiaria*.  
In: Fonseca DM, Martuscello JA (eds) Plantas forrageiras. UFV, Viçosa, pp 30-77
- Valle CB, Pagliarini MS (2009) Biology, cytogenetics, and breeding of *Brachiaria*. In: Singh RJ (ed) Genetics resources, chromosome engineering, and crop improvement. CRC Press, Boca Raton. pp 103-151
- Valle CB, Simioni C, Resende RMS, Jank L (2008) Melhoramento genético de *Brachiaria*.  
In: Resende RMS, Valle CB, Jank L (eds) Melhoramento de forrageiras tropicais. Embrapa Gado de Corte, Campo Grande. pp 13-53
- Valle CB, Euclides VPB, Montagner DB, Valério JR, Fernandes CD, Macedo MCM, Verzignassi JR, Machado LAZ (2013) BRS Paiaguás: A new *Brachiaria (Urochloa)* cultivar for tropical pastures in Brazil. *Tropical Grasslands* 1: 121-122
- Van Soest PJ (1994) Nutrition ecology of the ruminant. Cornell University Press, Ithaca
- Wilkins PW, Humphreys MO (2003) Progress in breeding perennial forage grasses for temperate agriculture. *J. Agric. Sci.* 140:129–150

Table 1. Estimate of genetic parameters as a result of linear mixed models analyses of phenotypic data used for selection of individuals in *B. ruziziensis* progenies

Traits	Season	$h_a^2$ <sup>a</sup>	$\rho$ <sup>b</sup>	$\bar{r}_{acut}$ <sup>c</sup>	Accuracy	CV <sub>gi</sub> % <sup>d</sup>	CV <sub>gp</sub> % <sup>e</sup>	CV <sub>r</sub> <sup>f</sup>	BLUP <sup>g</sup>	LRT <sup>h</sup>
Agronomic traits										
GM (g/plant)	Wet	0.48	0.49	0.67	0.89	54.76	25.68	0.50	<b>479.33</b>	165.98*
	Dry	0.59	0.61	0.60	0.93	79.07	39.47	0.58	242.27	183.45*
	Annual	0.47	0.48	0.66	0.91	63.88	31.94	0.53	388.65	181.62*
TDMY (g/plant)	Wet	0.48	0.49	0.65	0.90	51.91	25.68	0.47	111.99	186.58*
	Dry	0.51	0.52	0.50	0.95	71.79	36.35	0.58	78.34	175.02*
	Annual	0.47	0.47	0.64	0.89	59.36	29.68	0.50	98.99	204.05*
LDMY (g/plant)	Wet	0.52	-	-	0.90	42.70	21.35	0.46	98.47	97.49*
	Dry	<b>0.91</b>	-	-	<b>0.95</b>	107.62	53.81	0.73	59.22	198.93*
	Annual	0.60	0.61	0.52	0.92	75.16	37.58	0.60	78.52	171.81*
SDMY (g/plant)	Wet	0.14	-	-	0.69	23.94	11.97	0.21	31.21	11.23*
	Dry	0.54	-	-	0.92	113.48	56.74	0.53	22.51	72.89*
	Annual	0.04	<b>0.68</b>	0.02	0.81	68.71	34.36	0.37	26.51	8.32*
Regrowth (score)	Wet	0.30	0.31	0.54	0.84	22.40	14.62	0.36	3.19	172.90*
	Dry	0.39	0.40	0.66	0.87	27.72	7.56	0.41	3.12	137.81*
	Annual	0.34	0.34	0.64	0.85	23.94	11.97	0.38	3.16	204.90*
Nutritional value traits										
NDF (%)	Wet	0.04	-	-	0.42	0.93	0.47	0.10	65.36	0.82 <sup>ns</sup>
ADF	Wet	0.16	-	-	0.68	3.52	1.76	0.20	0.51	9.69*
Cellulose	Wet	0.22	-	-	0.74	3.31	1.66	0.24	0.30	16.70*
Lignin (Lig S)	Wet	0.21	-	-	0.73	8.04	4.02	0.24	0.04	12.89*
Lignin (Lig P)	Wet	0.24	-	-	0.75	15.48	7.74	0.26	0.15	20.00*
Crude protein (%)	Wet	0.14	-	-	0.70	3.23	1.62	0.22	16.42	11.65*
Silica	Wet	0.16	-	-	0.67	11.20	5.60	0.20	6.24	9.35*
IVOMD (%)	Wet	0.04	-	-	0.39	2.21	1.10	0.09	56.93	0.69 <sup>ns</sup>

\*  $P$ -value < 0.01 <sup>ns</sup> Not significant <sup>a</sup> Narrow sense heritability <sup>b</sup> Repeatability <sup>c</sup> genetic correlation among clippings <sup>d</sup> individual additive variation coefficient <sup>e</sup> Among progenies genetic coefficient <sup>f</sup> relative variation coefficient <sup>g</sup>Best linear unbiased predictor <sup>h</sup> Likelihood ratio test - Not estimated

Table 2. Genetic correlations amongst green matter yield (GM), total dry matter yield (TDMY), leaf dry matter yield (LDMY), stems dry matter yield (SDMY) and regrowth evaluated during wet and dry seasons in *B. ruziziensis* progenies

Traits	TDMYwet	LDMYwet	SDMYwet	Regrowth wet	GMdry	TDMYdry	LDMYdry	SDMYdry	Regrowth dry
GMwet	1.00	0.85*	0.37*	0.93*	<u>0.85</u> *	0.87*	0.83*	0.56*	0.91*
TDMYwet		0.84*	0.34*	0.93*	0.85*	<u>0.87</u> *	0.84*	0.56*	0.92*
LDMYwet			0.71*	0.78*	0.55*	0.58*	<u>0.54</u> *	0.22*	0.73*
SDMYwet				0.26*	0.04 <sup>ns</sup>	0.07 <sup>ns</sup>	-0.03 <sup>ns</sup>	<u>0.12</u> <sup>ns</sup>	0.23*
Regrowth					0.85*	0.87*	0.83*	0.57*	<u>0.92</u> *
GMdry						0.99*	0.99*	0.88*	0.88*
TDMYdry							0.99*	0.88*	0.89*
LDMYdry								0.89*	0.86*
SDMYdry									0.63*

<sup>ns</sup> Not-significant at 1% of probability by *t*-Student test

\* *P*-value < 0.01

Underlined: same traits evaluated in different seasons



Table 3. Genetic correlations amongst green matter (GM), total dry matter (TDMY), foliar dry matter (LDMY), stem dry matter (SDMY), regrowth, crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), *in vitro* digestibility of organic matter (IVOMD), lignin (S and P), cellulose and silica, evaluated in *B. ruziziensis* progenies on an annual basis

	TDMY	LDMY	SDMY	Regrowth	CP	NDF	ADF	IVOMD	Lig S	Lig P	Cel	Silica
GM	0.997*	0.972*	0.774*	0.851*	-0.596*	<b>0.531*</b>	-0.188*	0.105*	-0.285*	-0.380*	0.479*	-0.340*
TDMY		0.970*	0.773*	0.955*	-0.601*	<b>0.539*</b>	-0.205*	0.117*	-0.286*	-0.392*	0.471*	-0.352*
LDMY			0.817*	0.934*	-0.605*	0.508*	-0.231*	0.159*	-0.208*	-0.463*	<b>0.567*</b>	-0.417*
SDMY				0.686*	-0.329*	0.301*	-0.278*	<b>0.262*</b>	-0.189*	-0.429*	0.483*	-0.371*
Regrowth					-0.622*	0.503*	-0.265*	0.193*	-0.179*	-0.504*	0.528*	-0.455*
Crude protein						-0.574*	-0.022 <sup>ns</sup>	0.064 <sup>ns</sup>	0.070 <sup>ns</sup>	<b>0.245*</b>	-0.488*	<b>0.249*</b>
NDF							-0.148*	-0.207*	-0.416*	-0.133*	0.122*	-0.119*
ADF								-0.814*	-0.004 <sup>ns</sup>	0.841*	0.036 <sup>ns</sup>	0.872*
IVOMD									0.1937*	-0.783*	0.141*	-0.823*
Lig S										-0.287*	0.424*	-0.120*
Lig P											-0.448*	0.906*
Cellulose												-0.286

<sup>ns</sup> Not-significant at 1% of probability by *t*-Student test

\* *P*-value < 0.01

Table 4. Effect of different multiplicative selection indexes in terms of relative response and mean of selected *B. ruziziensis* progenies, considering directly measured total dry matter yield (TDMY), regrowth and crude protein and indirectly measured foliar dry matter yield (LDMY), when evaluated during wet and dry seasons and in an annual basis

	TDMY wet	LDMY wet	Regrowth wet	TDMY dry	Regrowth dry	TDMY annual	LDMY annual	Regrowth annual	CP
Multiplicative weight 0.5 in wet and 0.5 in dry season									
Selected mean (5%)	228.55	151.60	4.22	175.17	4.27	215.09	155.16	4.31	16.20
Relative response (5%)	2.04	1.54	1.32	2.24	1.37	2.17	1.98	1.36	0.99
Selected mean (1%)	273.60	160.22	4.33	205.18	4.48	257.52	185.61	4.48	16.27
Relative response (1%)	2.44	1.63	1.36	2.62	1.44	2.60	2.36	1.42	0.99
Multiplicative weigh 0.7 wet and 0.3 dry season									
Selected mean (5%)	228.97	153.23	4.21	167.85	4.27	212.53	156.17	4.31	16.20
Relative response (5%)	2.04	1.56	1.32	2.14	1.37	2.15	1.99	1.36	0.99
Selected mean (1%)	273.60	160.22	4.33	205.18	4.48	257.52	185.61	4.48	16.27
Relative response (1%)	2.44	1.63	1.36	2.62	1.44	2.60	2.36	1.42	0.99
Multiplicative annual basis									
Selected mean (5%)	225.35	148.57	4.19	191.69	4.30	219.25	163.63	4.34	16.22
Relative response (5%)	2.01	1.51	1.31	2.45	1.38	2.21	2.08	1.37	0.99
Selected mean (1%)	257.43	150.45	4.25	252.79	4.46	264.31	184.63	4.46	16.38
Relative response (1%)	2.30	1.53	1.33	3.23	1.43	2.67	2.35	1.41	1.00
Wet and dry season – correlation weight									
Selected mean (5%)	224.00	142.55	4.08	200.02	4.18	221.38	163.82	4.22	16.25
Relative response (5%)	2.00	1.45	1.28	2.55	1.34	2.24	2.09	1.34	0.99
Selected mean (1%)	247.47	137.28	4.22	271.91	4.40	265.01	176.82	4.40	16.40
Relative response (1%)	2.21	1.39	1.32	3.47	1.41	2.69	2.25	1.39	1.00
Annual basis - correlation weight									
Selected mean (5%)	<b>224.47</b>	<b>142.08</b>	<b>4.08</b>	<b>198.99</b>	<b>4.19</b>	<b>221.43</b>	<b>162.05</b>	<b>4.22</b>	<b>16.24</b>
Relative response (5%)	2.00	1.44	1.28	2.54	1.34	2.24	2.06	1.34	0.99
Selected mean (1%)	<b>265.53</b>	<b>156.11</b>	<b>4.24</b>	<b>244.96</b>	<b>4.41</b>	<b>267.07</b>	<b>185.42</b>	<b>4.41</b>	<b>16.30</b>
Relative response (1%)	2.37	1.59	1.33	3.13	1.41	2.70	2.36	1.40	0.99

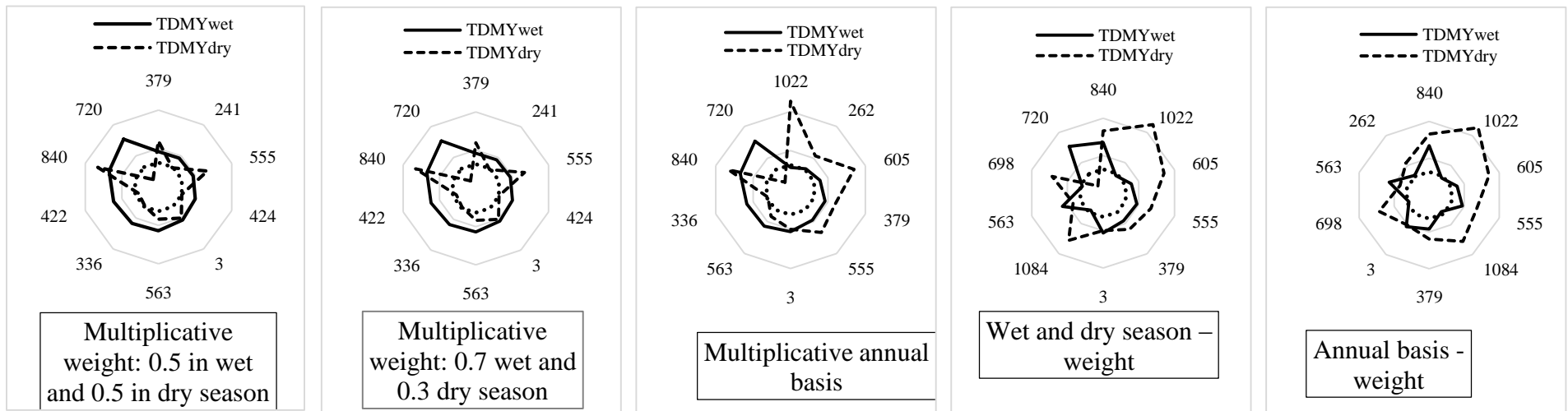


Figure 1. Graphic representation of total dry matter yield (TDMY), in wet and dry season, of selected individual using five multiplicative selection indexes

## CAPÍTULO 2

### **Flowering traits in tetraploid *Brachiaria ruziziensis* breeding**

Rosângela Maria Simeão, Adriane Schio Silva, Cacilda Borges do Valle

R.M. Simeão (correspondent author) and C.B. Valle

Embrapa Beef Cattle, Radio Maia Avenue, 830, Zona Rural, Campo Grande, MS, Brazil

e-mail: [rosangela.simeao@embrapa.br](mailto:rosangela.simeao@embrapa.br)

A.S. Silva

Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, MS, Brazil

**Abstract** - Tetraploid *Brachiaria ruziziensis* genotypes that reproduce sexually are essential for breeding other species of the genus *Brachiaria* that reproduce by apomixis. Aiming at study the available phenotypic and genetic variability in the breeding population of *B. ruziziensis*, heritability, genetic and phenotypic correlations between the traits associated with flowering and the traits responsible for forage yield and nutritional value were estimated. Seventeen traits in 1180 individuals from 59 open pollinated progenies were studied, and the data were analyzed by mixed model methods. Individuals with sparse flowering presented higher breeding values for total dry matter yield and total number of panicles per plant than individuals with early or late flowering. Considering breeding population differences on flowering behavior, individual narrow sense heritability and genetic correlations between flowering, agronomic value and nutritional value traits have to be considered in intrapopulation breeding and in reciprocal recurrent selection.

**Key words:** genetic variation, flowering phenology, grass forage, mixed model, signal grass

## INTRODUCTION

Species of the African forage grasses *Brachiaria* (Trin.) Griseb. are the most important for pastures in the tropics. In Brazil, the *Brachiaria* germplasm collection is maintained at the Embrapa Beef Cattle Research Center, in Campo Grande, MS, and encompasses 475 accessions from 13 species. *Brachiaria ruziziensis* (syn *Urochloa ruziziensis* R. Germ. & Evrard Crins) is represented by 16 diploid accessions ( $2n = 18$ ) and seven artificially-induced tetraploid accessions ( $2n = 4x = 36$ ) developed by Swenne et al. (1981) (Valle and Savidan 1996). Both ploidy levels present a sexual mode of reproduction, differently from most naturally-polyploid ones, which are apomictic (Pagliarini et al. 2008). Sexual tetraploid *B. ruziziensis* are also highly self-incompatible (Ferguson and Crowder 1974).

The greatest importance of sexual polyploid accessions of *B. ruziziensis* is their use as the female genitor in controlled crosses with apomictic species of economic importance (*B. brizantha* and *B. decumbens*), thus making breeding viable. Miles (2007) proposed recurrent selection based

on specific combining ability, and Worthington and Miles (2015) proposed reciprocal full-sib recurrent selection (RFRS) as appropriate methods for increasing heterotic effects in a sexual *Brachiaria* breeding population. Independently of the method to be used, breeding goes through cycles of intrapopulational improvement in sexual individuals, regardless they are the initial sexual population, such as purely tetraploid *B. ruziziensis*, or the interspecific sexual individuals eventually generated in exploratory crosses. Aiming at achieve more efficient breeding methods, high level knowledge is needed about inheritance and genetic variability for economically important traits associated with yield, as well as traits associated to cross ability, such as distribution of flowering in the species and if there are genetic factors causatives of differences.

In tropical forage grasses breeding programs, the flowering period and the time of the year in which it occurs are not generally target traits for selection. Selection criteria are more associated with traits of forage yield and nutritional value (Valle et al. 2008) than flowering time. This is because under cultivation and with grazing pressure, flowering is practically null. According to Santos et al. (2004), by using correct management of cultivated tropical grasses, flowering is controlled (or prevented) once the length of stems are constantly reduced by herbivory. Such management result in higher nutritional value and value of the forage offered to animals and also reduces the losses caused by dead matter accumulation (Marcelino et al. 2006).

However, the phenology of reproduction in forage grasses is an important component to be considered in breeding, which involves carrying out controlled crosses to obtain full-sib or open pollinated progeny. The importance is also extended to the production of seeds, both in quantity and value needed for commercialization, which will determine success in adopting the improved cultivar.

In this context, the objectives in this work were to determine the flowering period in open pollinated *B. ruziziensis* progenies, to estimate genetic and phenotypic parameters of traits associated with flowering, and to estimate the correlation between these traits and those associated with the yield and nutritional value of forage.

## MATERIAL AND METHODS

### Progenies and phenotypic evaluation

The 59 open pollination progenies of sexual and tetraploid *Brachiaria ruziziensis* evaluated in this experiment were obtained as described by Simeão et al. (2012). In the progeny test, 1180 individuals germinated from seeds were experimentally evaluated. The experiment was in a random block design, with 20 repetitions and one plant per plot, spaced at 1.5 m x 1.5 m, and planted in November 2012. The experiment was carried out at Embrapa Beef Cattle, in Campo Grande, Mato Grosso do Sul state, 20°28' latitude south, 55°39' longitude west, altitude 530 m. Field soil is classified as Haplic Ferralsol (Rhodic) (FAO 2006). According to Köppen, the climate is of the type Aw, humid tropical, with a rainy summer and a dry winter.

During the phenological evaluation, the monthly rainfall was 148 mm, 77.4 mm, 130.8 mm and 42.2 mm, for the months of January, February, March and April, respectively. The mean minimum and maximum temperatures were 20.21°C/30.78°C, 21.09°C/30.92°C, 20.29°C/30.15°C and 20.11°C/29.88°C, respectively for the same months.

Nine cuts had been carried out to evaluate forage yield, at a height of 15 cm, in individual plants, in the period from January 2013 to January 2014. After the ninth yield evaluation cut which was carried out on 1/22/14, the phenological evaluation of flowering started for the 1180 individuals. This took place weekly over a period of 84 days, on the following dates: 02/12//2014, 02/19/2014, 02/26/2014, 03/05/2014, 03/12/2014, 03/19/2014, 03/26/2014, 04/02/2014, 04/09/2014 and 04/16/2014.

The following morphological traits associated with flowering were evaluated: number of panicles per plant (NPP), per week and total in the period; number of ears per raceme (NER), in a sample of five racemes per plant; mode of flower insertion in spikelet (IES) (0 – uni-serial; 1 – bi-serial; 2 – mixed; 3 – complex); stigma color (CEST) (0 – white; 1 – pink; 2 – purple; 3 – dark purple; 4 – black; 5 – other); anther color (CANT) (0 – white; 1 – pale yellow/gray; 2 – yellow; 3 – brown; 4 – bluish/other). The number of days to the first flowering (DTF) was counted from the

date of the last cut and only after the presence of at least three racemes per plant. The individuals that started flowering from the 21<sup>st</sup> to the 42<sup>nd</sup> day were classified as early; those that flowered from the 49<sup>th</sup> to the 70<sup>th</sup> day as intermediate; those that started after the 77<sup>th</sup> day were considered late; in addition, the individuals that flowered over more than one period were classified as of sparse flowering.

Samples of leaves that had been obtained from cut 2, which was carried out on 03/04/13 and 03/05/13, so during the period which in the previous year was equivalent to the beginning of the flowering period, were analyzed using Near Infrared Spectroscopy (NIRS) (Marten et al. 1985). The Van Soest sequential method (Van Soest 1994) was used to estimate the fiber components, which are associated with the nutritional value of the forage grass. The total fiber components were obtained (neutral detergent fiber, NDF), lignocelluloses (acid detergent fiber, ADF), cellulose (Cel) and lignin content via sulfuric acid (Lig S) and lignin via permanganate (Lig P), as well as crude protein content (CP) and silica (Sil). In this study, we used the variables ADF, Cel, Lig S and Lig P expressed as a proportion of the fiber in total detergent (NDF), in order to characterize the fiber value, rather than only estimating the absolute values of these components. The *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) was also determined, which represents the potential for digest fiber in ruminants and is, therefore, useful as an index of biomass quality (Gouy et al. 2013).

The agronomic traits of green matter (GM – in g plant<sup>-1</sup>), total dry matter yield (TDMY - g plant<sup>-1</sup>) and regrowth capacity (Reg), as described by Figueiredo et al. (2012), were analyzed for cut 9, carried out on 01/22/14, that is, 21 days before the beginning of the phenological evaluation of flowering.

### **Statistical methods**

All the univariate analyses were carried out using mixed linear models. The following statistical model was used in the analysis of the nutritional value traits (NDF and proportions of ADF, Lig S, Lig P, Cel, PB, Sil), of the flowering traits (NPP, NER, IES, CEST and CANT) and of the agronomic traits (GP, TDMY and Reg):



$y = Xr + Za + e$ , in which  $y$  is the vector of data,  $r$  is the vector of the effects of repetition (fixed) added to the general mean,  $a$  is the vector of the (random) individual additive effects, and  $e$  is the vector of random residuals. The upper-case letters represent the matrices of incidence for the effects. The individual narrow sense heritability ( $h_a^2$ ) was estimated considering a correction by Wright's kinship coefficient (Resende, 2002a), due to the 1/7 proportion of crosses among related individuals, because of the seven initial genitors that gave rise to the 59 progenies. The selective accuracy was estimated according Resende (2002a), based on the parameter prediction error variance (PEV), via elements of the inverse coefficients matrix in the mixed model equations. The PEV statistic is related to the accuracy by means of the equation:  $\hat{r}_{aa} = (1 - PEV / \sigma_a^2)^{1/2}$  in which  $\sigma_a^2$  is the genetic variation among the progenies being evaluated. The genetic correlation among these traits was estimated as (Falconer and Mackay 1996):  $r_a = \text{COV}_{a(x,y)} / \sigma_{ax} \sigma_{ay}$ , in which  $\text{COV}_{a(x,y)}$  is the additive genetic covariance between traits  $x$  and  $y$ ;  $\sigma_{ax}$  and  $\sigma_{ay}$  are the additive genetic standard deviations for traits  $x$  and  $y$ , respectively. The Student- $t$  test was used to test the significance of the correlations (Steel and Torrie 1980).

The deviance statistic was used for genetic effects hypotheses tests. The fit of different statistical models to the data was tested using the Wilks Likelihood Ratio Test (LRT) (Dobson 1990; Resende 2007). All the statistical analyses were carried out using software Selegen – REML/BLUP (Resende 2002b).

## RESULTS AND DISCUSSION

Individuals of *B. ruzizensis* progenies presented a high amplitude in number of days to flower, with an interval that reached 63 days between the earliest and latest (Figure 1). The highest percentage of individuals flowering at the same time occurred at 84 days and those individuals also presented the highest number of panicles per plant. Of the 1180 individuals evaluated, 22% did not flower during the period under study, and 1% presented early flowering; that is, they flowered from

day 21 to day 35. Late flowering, from 70 to 84 days, was seen in 43% of the individuals. Sparse flowering was seen in 34% of the individuals. This information is important for intraspecific breeding tetraploid *B. ruziziensis*, especially if we consider this species as an essential component in reciprocal recurrent selection adopted for breeding apomictic species of commercial importance. Open pollination progenies generated in intraspecific breeding cycle will be used and, depending on the individuals selected, there may be asynchronous flowering, resulting in inappropriate genetic sampling and compromising the predicted genetic gains in subsequent cycles. Furthermore, knowledge about the flowering period for both the sexual and the apomictic components in interspecific hybridization is an essential condition for planning controlled crosses and achieving success in obtaining hybrids. The effects of genotype x environment interaction in the expression of flowering are well known in grasses (Casler et al. 2013; Arnout et al. 2014), and these may result in the different expression of traits per local. This can be exploited in practice, if necessary, for example in carrying out crosses between asynchronous elite individuals. However, the GxE interaction was not quantified in this research, which was carried out in a single year and only at one site.

Breeding values of the individuals analyzed for the traits crude protein content and acid detergent fiber were similar to those among the previously defined distribution groups for flowering period (Table 1) and were not influenced by these. These results differ from those obtained by Casler et al. (2014), in which sparse flowering cultivars presented 9% more crude protein and 3% less NDF in orchardgrass, but they corroborate previous studies in which there was no evidence of the effect of flowering on the forage quality in the same species (Berg et al. 1981).

It was interesting to observe that for the traits total dry matter yield (TDMY) and number of panicles per plant (NPP), breeding values means differed among groups (Table 1). Individuals with sparse flowering presented mean breeding values for TDMY that are 19% higher than those in late-flowering individuals, 49% higher than those in early-flowering individuals and 36% higher than those in individuals that did not flower during the total period considered. For NPP trait, the sparse

flowering individuals presented 64% more panicles than the late flowerers and 70% more than the early flowerers did. However, it should be emphasized that the reference for forage yield used in this experiment was taken before flowering began. In this case, the valid association is that individuals with greater forage mass in the cut previous to the beginning of the flowering period were those that flowered for a longer period and more intensely. The results observed for TDMY and NPP in *B. ruziziensis* differ from those obtained by Casler et al. (2013) in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.), whose cultivars with sparse flowering presented 57% fewer panicles than the cultivars with concentrated flowering. They also presented a forage yield 24% to 32% lower, depending on the management of cutting.

The main factors determining flowering in forage grasses, both temperate or tropical, are the length of the day (photoperiod) and the temperature (Humphreys et al. 2006), and their interaction with genes associated with this trait, activating or deactivating these. In this context, the investigation of genetic variability and its quantification is essential for breeding purposes. Among the studied traits associated with flowering, only IES did not present genetic variability in the studied population (Table 2). The narrow sense heritability, corrected for endogamy, for the traits NER, CEST, CANT, DTF and NPP, presented from low (0.14) to high (0.90) magnitudes. Narrow sense heritability for the number of days to flowering (DTF) was of low magnitude ( $h^2=0.20$ ) in *B. ruziziensis* and similar to the magnitude ( $h^2=0.17$ ) obtained for the same trait in tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) by Amini et al. (2013). For the number of panicles per plant (NPP), narrow sense heritability evidenced in *B. ruziziensis* was of greater magnitude ( $h^2=0.74$ ) than that obtained by Amini et al. (2013) for tall fescue ( $h^2=0.46$ ). The high magnitude of trait CANT heritability ( $h^2=0.90$ ) is an indication of few genes determining it. Furthermore, narrow sense heritability varied from 0.24 to 0.75 for the agronomic traits and from 0.12 to 0.20 for the nutritional value traits. Low-heritability traits demand more efficient and accurate breeding methods, as well as the appropriate use of all genetic information available in experiments (Simeão-Resende et al. 2013). In this context, the regrowth capacity, all traits associated with forage quality and the number of days

to flowering should use methods such as combined selection and best linear unbiased prediction to obtain greater gains per cycle.

Genetic variation coefficients among individuals ( $CV_{gi}$ ) and among progenies ( $CV_{gp}$ ) revealed marked difference among traits. Nutritional value traits presented the lowest magnitudes for these parameters, below 16%. The traits NER and NPP presented high magnitudes for both genetic variation coefficients. Due to the importance of these last two traits for yield and commercialization of forage seeds, the detection of this variability represents a contribution to breeding programs for *B. ruziziensis* and also to its use in directing controlled crosses with apomictic accessions of species of greater commercial importance. The agronomic traits GM and TDMY presented higher genetic variation (>29%) than did nutritional value traits in this forage grass, meaning higher genetic variation available in biomass yield selection. High magnitude accuracy (>85%) for an efficient selection was obtained for the traits GM, TDMY, NER, and NPP, independent of the fact that the relative genetic variation coefficients were lower than 1.0. The high accuracy can be due to the large number of repetitions used in the experiment, given that accuracy and number of repetitions are interconnected (Resende and Duarte 2007). This evidence cannot be extended to the nutritional value traits or to CEST and DTF, due to the lower genetic variability expressed for these traits in the progenies evaluated.

Significant genetic correlations of high magnitude were seen between the traits NPP and TDMY (Table 3) and indicate that direct selection for objective trait TDMY would be effective in improving panicle yield. It still needs to be investigated if there is a positive and significant genetic correlation between the number of panicles and the production of viable seeds in *B. ruziziensis*. There is a strong negative genetic correlation between panicle density and heading date, which backs up the evidence of differences between the means of the genetic values for NPP among the flowering distribution groups, as presented above. The phenotypic correlations between the traits of nutritional value and those associated with flowering were not significant. The genetic correlations between these same traits in many two-on-two combinations presented low to moderate

magnitudes, positive or negative, and were significant. Given the importance of genetic correlations between traits in breeding, knowledge of this aspect supports and directs the selection for each trait, and should be considered in practice, especially if the aim is to increase the number of panicles per plant, which will promote a reduction in the percentage of crude protein and an increase in NDF. In either case, the result will be undesirable.

An overlap in flowering among individuals selected for the obtainment of open-pollination progenies in the intrapopulational recombination cycle and also to carry out controlled crosses with these apomictic species is essential. In the first case, it is because all individuals in the population must be able to recombine and maintain the effective population size through various breeding generations (Johnson et al. 2004). In the second, obviously because there can be no crossing without overlap. Knowledge of the inheritance of mode of the traits associated with flowering, their correlation with other economically important traits, and the variability available in the breeding population of *B. ruziziensis* will allow it to be used appropriately in breeding species from the *Brachiaria* genus by interspecific hybridization.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

To the National Council of Technological and Scientific Development (CNPq) and to the Associação para o Fomento à Pesquisa de Melhoramento de Forrageiras (UNIPASTO) for financial support to the *Brachiaria* Forage Breeding Program of the Embrapa Beef Cattle.

## **Caracteres associados ao florescimento no melhoramento de *Brachiaria ruziziensis* tetraploide**

**Resumo** – Genótipos de *Brachiaria ruziziensis* tetraploide que se reproduzem sexuadamente são essenciais ao melhoramento de outras espécies do gênero *Brachiaria* que se reproduzem por apomixia. Com o objetivo de estudar a variabilidade fenotípica e genotípica disponível na população de melhoramento de *B. ruziziensis*, foram estimados os parâmetros herdabilidade e as

correlações genéticas e fenotípicas entre os caracteres associados com o florescimento e os caracteres responsáveis pela produção forrageira e a sua qualidade nutricional. Foram estudados 17 caracteres em 1180 indivíduos de 59 famílias de polinização aberta com os dados analisados por métodos de modelos mistos. Indivíduos com florescimento esparsos apresentaram valores genéticos de maior magnitude para os caracteres produção de matéria seca total e número total de panículas por planta do que indivíduos com florescimento precoce ou tardio. As diferenças genéticas encontradas na população de melhoramento para o comportamento de florescimento, as correlações genéticas entre os caracteres associados ao florescimento, agrônomicos e de qualidade nutricional, bem como as suas herdabilidades no sentido restrito, devem ser considerados no melhoramento intrapopulacional e na seleção recorrente recíproca.

**Palavras-chave:** variação genética, fenologia do florescimento, gramínea forrageira, modelos mistos, braquiária-ruziziensis

## REFERENCES

- Amini F, Majidi MM and Mirlohi A (2013) Genetic and genotype x environment interaction analysis for agronomical and some morphological traits in half-sib families of tall fescue. **Crop Science** **53**: 411-421.
- Arnout S, Quillet M-C and Brancourt-Hulmel M (2014) *Miscanthus* clones display large variation in floral biology and different environmental sensitivities useful for breeding. **Bioenergy Research** **7**: 430-441.
- Berg, CC, Wood GM, Hovin AW and Rincker CM (1981) Floral induction and forage yield and quality of sparse-flowering orchardgrass synthetics. **Crop Science** **21**:677–680.
- Casler MD, Papadopolous YA, Bittman S, Mathison RD, Min DH, Robins JG, Cherney JH, Acharya SN, Belesky DP, Bowley SR, Coulman BE, Drapeau R, Ehlke NJ, Hall MH, Leep RH, Michaud R, Rowsell J, Shewmaker GE, Teutsch CD and Coblenz WK (2013) Sparse-flowering orchardgrass is stable across temperate North America. **Crop Science** **53**: 1870-1877.

Casler MD, Undersander DJ, Papadopolous YA, Bittman S, Hunt D, Mathison RD, Min DH, Robins JG, Cherney JH, Acharya SN, Belesky DP, Bowley SR, Coulman BE, Drapeau R, Ehlke NJ, Hall MH, Leep LH, Michaud R, Rowsell J, Shewmaker GE, Teutsch CD and Coblenz WK (2014) Sparse-flowering orchardgrass represents an improvement in forage quality during reproductive growth. **Crop Science** **54**: 421-429.

Dobson AJ (1990) **An introduction to generalized linear models**. Chapman & Hall, Melbourne. 174p.

Falconer DS and Mackay TFC (1996) **Introduction to quantitative genetics**. Longman, Harlow. 463p.

FAO (2006) **World reference base for soil resources 2006**  
<ftp://ftp.fao.org/agl/agll/docs/wsrr103e.pdf>.

Ferguson JE and Crowder LV (1974) Cytology and breeding behavior of *Brachiaria ruziziensis* Germain Et Evrard. **Crop Science** **14**: 893-895.

Figueiredo UJ, Nunes JAR and Valle CB (2012) Estimation of genetic parameters and selection of *Brachiaria humidicola* progenies using a selection index. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** **12**: 237-244.

Gouy M, Rousselle Y, Bastianelli D, Lecomte P, Bonnal L, Roques D, Efile J-C, Rocher S, Daugrois J, Toubi L, Nabeneza S, Hervouet C, Telismart H, Denis M, Thong-Chane A, Glaszmann JC, Hoarau J-Y, Nibouche S, Costet L (2013) Experimental assessment of the accuracy of genomic selection in sugarcane. **Theoretical and Applied Genetics** **126**: 2575-2586.

Humphreys MW, Yadav RS, Cairns AJ, Turner LB, Humphreys J and Skot L (2006) A changing climate for grassland research. **New Phytologist** **169**: 9-26.

Johnson RC, Bradley VL and Evans MA (2004) Inflorescence sampling improves effective population size of grasses. **Crop Science** **44**: 1450-1455.

- Marcelino KRA, Nascimento Junior D, Silva SC, Euclides VPB and Fonseca DM (2006) Características morfogênicas e estruturais e produção de forragem do capim-marandu submetido a intensidades e frequências de desfolhação. **Revista Brasileira de Zootecnia** **35**: 2243-2252.
- Marten GC, Shenk JS and Barton II FE (1985) **Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS), analysis quality**. USDA, Washington, DC. 110p.
- Miles JW (2007) Apomixis for cultivar development in tropical grasses. **Crop Sci** **47**: S238-S249.
- Pagliarini MS, Risso-Pascotto C, Souza-Kaneshima AM and Valle CB (2008) Analysis of meiotic behavior in selecting potential genitors among diploid and artificially induced tetraploid accessions of *Brachiaria ruziziensis* (Poaceae). **Euphytica** **164**: 181-187.
- Resende MDV (2002a) **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Informação Tecnológica, Brasília. 975p.
- Resende MDV (2002b) **Software Selegen – REML/BLUP**. Embrapa Florestas, Colombo. 67p.
- Resende MDV (2007) **Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético**. Embrapa Florestas, Colombo. 561p.
- Resende MDV and Duarte JB (2007) Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical** **37**: 182-194
- Resende MDV, Resende RMS, Jank L and Valle CB (2008) Experimentação e análise estatística no melhoramento de forrageiras. In: Resende RMS, Valle CB, Jank L (eds) **Melhoramento de forrageiras tropicais**. Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, pp 195-293.
- Santos PM, Balsalobre, MAA and Corsi M. (2004) Características morfogênicas e taxa de acúmulo de forragem do capim-mombaça submetido a três intervalos de pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia** **33**: 843-851.
- Simeão-Resende RM, Casler MD, Resende MDV (2013) Selection methods in forage breeding: a quantitative appraisal. **Crop Science** **53**:1925–1936
- Simeão RM, Valle CB, Alves GF, Moreira LDA, Silva DR, Araújo DF, Ferreira RCU, Barrios SCL, Jank L, Caramalac GR, Naka IM, Calixto S, Carvalho J (2012) **Melhoramento de *Brachiaria***



*ruziziensis* tetraploide sexual na Embrapa: métodos e avanços. Embrapa, Campo Grande.

<http://old.cnpgc.embrapa.br/publicacoes/doc/DOC194.pdf>.

Steel RGD and Torrie JH (1980) **Principles and procedures of statistics**. New York, McGraw-Hill. 633p.

Swenne A, Louant B-P and Dujardin M (1981) Induction par la colchicine de formes autotétraploïdes chez *Brachiaria ruziziensis* Germain et Evrard (Graminée). **Agronomie Tropicale** **36**: 134-141.

Valle CB and Savidan YH (1996) Genetics, cytogenetics, and reproductive biology of *Brachiaria*. In: Miles JW, Maass BL, Valle CB (eds) **Brachiaria: biology, agronomy, and improvement**. CIAT/Embrapa, Colombia, pp 147–163.

Valle CB, Simioni C, Resende RMS, Jank L (2008) Melhoramento genético de *Brachiaria*. In: Resende RMS, Valle CB, Jank L (eds) **Melhoramento de forrageiras tropicais**. Embrapa Gado de Corte, Campo Grande. pp 13-53.

Van Soest PJ (1994) **Nutritional ecology of the ruminant**. Cornell University Press, Ithaca. 476p.

Worthington ML, Miles JW (2015) Reciprocal full-sib recurrent selection and tools for accelerating genetic gain in apomictic *Brachiaria*. In: Budak H, Spangenberg G (eds), **Molecular Breeding of Forage and Turf**. Springer International Publishing Switzerland. pp 19-30

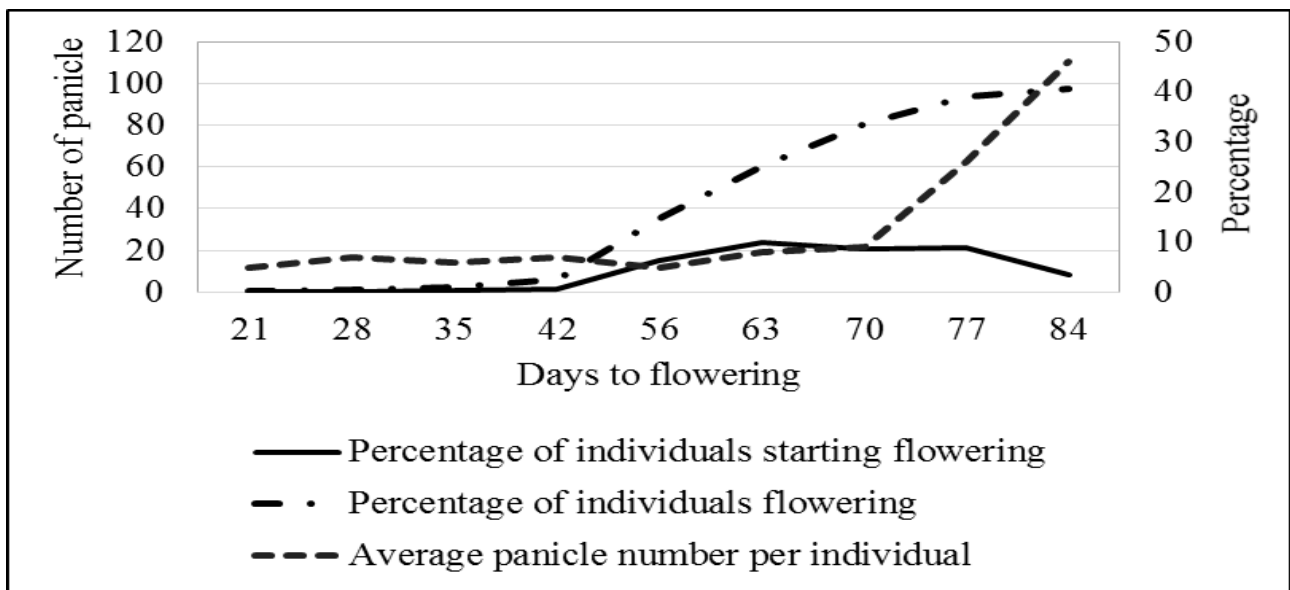
Figure 1. Flowering distribution of *B. ruziziensis* progenies

Table 1. Mean genetic values in individuals for the traits crude protein content (CP), neutral detergent fiber (NDF), total dry matter yield (TDMY) and total number of panicles per flowering distribution group in open pollination progenies of *B. ruziziensis*

Distribution	CP	NDF	TDMY	Total number of panicles
No flower	16.45	0.50	84.84	0
Early	16.53	0.51	77.30	64.18
Late	16.44	0.51	96.96	66.42
Sparse	16.38	0.51	115.42	108.94

Table 2. Estimates of genetic parameters resulting from analyses by mixed linear models of phenotypic data associated with the phenology of flowering (number of ears per raceme - NER, mode of insertion of ears – IES, color of stigma – CEST, color of anther – CANT, number of days to flowering - DTF and number of panicles per plant – NPP), nutritional quality and agronomic traits for forage yield in progenies of *B. ruziziensis*

Traits	$h_a^2$ <sup>a</sup>	$h_{mp}^2$ <sup>b</sup>	Accuracy	CV <sub>gi</sub> % <sup>c</sup>	CV <sub>gp</sub> % <sup>d</sup>	CV <sub>r</sub> <sup>e</sup>	Estimated mean	Phenotypic range	LRT <sup>f</sup>
Flowering traits									
NER	0.43	0.77	0.88	46.79	23.39	0.40	1.90	0 – 9.00	87.88*
IES	0.02	0.07	0.27	0.68	0.34	0.03	0.96	0 – 2.00	0.1 <sup>ns</sup>
CEST	0.14	0.48	0.69	3.06	1.53	0.07	0.35	0 – 4.00	10.69*
CANT	0.90	0.93	0.97	48.23	24.12	0.97	1.42	0 – 4.00	351.26*
DTF	0.20	0.58	0.76	7.38	3.69	0.26	68.06	21 – 84	16.13*
NPP - total	0.74	0.86	0.93	84.82	42.41	0.56	84.98	1.00 – 430.00	134.87*
Nutritional quality traits <sup>g</sup>									
NDF	0.07	0.33	0.57	1.40	0.70	0.16	65.42	48.74 – 91.02	3.40 <sup>ns</sup>
ADF	0.14	0.49	0.70	3.78	1.89	0.22	0.51	0.35 – 0.80	10.97*
Cellulose	0.14	0.49	0.70	3.00	1.50	0.22	0.30	0.20 – 0.39	11.03*
Lignin (Lig S)	0.13	0.46	0.68	7.75	3.87	0.21	0.04	0.01 – 0.08	9.08*
Lignin (Lig P)	0.20	0.58	0.76	16.10	8.05	0.27	0.15	0.06 – 0.46	20.84*
Crude protein	0.14	0.49	0.70	3.28	1.64	0.22	16.40	10.45 – 21.84	11.36*
Silica	0.12	0.45	0.67	11.19	5.60	0.20	6.25	1.69 – 22.95	8.84*
IVOMD	0.04	0.23	0.48	2.78	1.39	0.12	56.87	6.58 – 76.15	1.46 <sup>ns</sup>
Agronomic traits <sup>h</sup>									
GM	0.75	0.86	0.93	84.82	42.41	0.56	384.28	9.68 – 1913.68	151.17*
TDMY	0.71	0.86	0.93	59.66	29.83	0.55	103.59	6.28 – 443.58	140.67*
Regrowth	0.24	0.63	0.79	14.16	7.08	0.29	2.43	0.76 – 4.55	27.48*

\* *P*-value < 0.01; <sup>ns</sup> Not significant; <sup>a</sup> Narrow sense heritability; <sup>b</sup> Family mean heritability; <sup>c</sup> Individual additive variation coefficient; <sup>d</sup> Among progenies genetic coefficient; <sup>e</sup> relative variation coefficient; <sup>f</sup> Likelihood ratio test; <sup>g</sup> NDF – Neutral detergent fiber; ADF – Acid detergent fiber and IVOMD – *in vitro* digestibility of organic matter; <sup>h</sup> GM – Green matter and TDMY – total dry matter yield.

Table 3. Phenotypic (above diagonal) and genetic (below diagonal) correlation among traits associated with flowering phenology, nutritional value and associated with yield evaluated in progenies of tetraploid *B. ruziziensis*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
<b>(1) NER</b>	<b>1.00</b>	-0.05 <sup>ns</sup>	0.15*	0.11*	-0.03 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>	0.17*	0.15*	0.06 <sup>ns</sup>	-0.08 <sup>ns</sup>	0.07 <sup>ns</sup>	0.03 <sup>ns</sup>	-0.03 <sup>ns</sup>	-0.01 <sup>ns</sup>	0.13*	0.01 <sup>ns</sup>	0.17*
<b>(2) IES</b>	0.84*	<b>1.00</b>	0.28*	0.09 <sup>ns</sup>	-0.11*	0.05 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>	0.03 <sup>ns</sup>	0.00 <sup>ns</sup>	0.03 <sup>ns</sup>	-0.06 <sup>ns</sup>	0.04 <sup>ns</sup>	-0.02 <sup>ns</sup>	-0.06 <sup>ns</sup>	-0.02 <sup>ns</sup>	-0.05 <sup>ns</sup>
<b>(3) CEST</b>	0.24*	-0.08 <sup>ns</sup>	<b>1.00</b>	-0.25*	-0.07 <sup>ns</sup>	-0.03 <sup>ns</sup>	-0.27*	-0.25*	-0.14*	0.14*	-0.22*	0.05 <sup>ns</sup>	0.04 <sup>ns</sup>	0.03 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>	-0.01 <sup>ns</sup>	0.07 <sup>ns</sup>
<b>(4) CANT</b>	0.72*	0.00 <sup>ns</sup>	-0.19*	<b>1.00</b>	-0.19*	0.38*	0.44*	0.43	0.20*	-0.14*	0.19*	-0.06 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	-0.08 <sup>ns</sup>	-0.09 <sup>ns</sup>	0.08 <sup>ns</sup>	-0.10*
<b>(5) DTF</b>	-0.09 <sup>ns</sup>	0.27*	-0.15*	-0.48*	<b>1.00</b>	-0.59*	-0.23*	-0.20*	-0.20*	0.04 <sup>ns</sup>	-0.08 <sup>ns</sup>	0.07 <sup>ns</sup>	-0.04 <sup>ns</sup>	0.04 <sup>ns</sup>	0.07 <sup>ns</sup>	0.04 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>
<b>(6) NPP</b>	-0.07 <sup>ns</sup>	-0.04 <sup>ns</sup>	-0.15*	0.66*	<u>-0.60*</u>	<b>1.00</b>	0.49*	0.44*	0.34*	-0.12*	0.13*	0.00 <sup>ns</sup>	-0.02 <sup>ns</sup>	-0.06 <sup>ns</sup>	-0.01 <sup>ns</sup>	0.07 <sup>ns</sup>	-0.01 <sup>ns</sup>
<b>(7) GM</b>	0.18*	0.02 <sup>ns</sup>	-0.31*	0.82*	-0.44*	<u>0.73*</u>	<b>1.00</b>	0.97*	0.30*	-0.17*	0.19*	0.01 <sup>ns</sup>	-0.02 <sup>ns</sup>	-0.07 <sup>ns</sup>	-0.03 <sup>ns</sup>	0.15*	-0.01 <sup>ns</sup>
<b>(8) TDMY</b>	0.19*	0.02 <sup>ns</sup>	-0.30*	0.84*	-0.43*	<u>0.70*</u>	0.99*	<b>1.00</b>	0.27*	-0.14*	0.16*	-0.01 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	-0.06 <sup>ns</sup>	-0.05 <sup>ns</sup>	0.14	-0.04 <sup>ns</sup>
<b>(9) Reg</b>	0.48*	0.14*	-0.21*	0.63*	-0.35*	0.54*	0.74*	0.72*	<b>1.00</b>	-0.04 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>	-0.06 <sup>ns</sup>	0.04 <sup>ns</sup>	-0.06 <sup>ns</sup>	-0.05 <sup>ns</sup>	-0.02 <sup>ns</sup>	-0.08 <sup>ns</sup>
<b>(10) CP</b>	0.45*	0.16*	0.31*	-0.46*	0.31*	-0.19*	-0.53*	-0.55*	-0.45*	<b>1.00</b>	-0.50*	-0.61*	0.64*	-0.04 <sup>ns</sup>	-0.44*	-0.62*	-0.52*
<b>(11) NDF</b>	0.45*	-0.06 <sup>ns</sup>	-0.32*	0.53*	-0.27*	0.39*	0.51*	0.52*	0.32*	-0.55*	<b>1.00</b>	0.14*	-0.47*	-0.41*	0.25*	-0.05 <sup>ns</sup>	0.28*
<b>(12) ADF</b>	0.47*	0.07 <sup>ns</sup>	-0.13*	-0.45*	0.36*	-0.41*	-0.22*	-0.22*	-0.06 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	-0.14*	<b>1.00</b>	-0.89*	0.03 <sup>ns</sup>	0.90*	0.58*	0.92*
<b>(13) IVOMD</b>	0.45*	-0.11*	0.33*	0.23*	-0.27*	0.25*	0.08 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>	-0.06 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	-0.25*	-0.81*	<b>1.00</b>	0.14*	-0.89*	-0.38*	-0.92*
<b>(14) Lig S</b>	0.50*	0.04 <sup>ns</sup>	0.27*	-0.27*	0.06 <sup>ns</sup>	-0.43*	-0.33*	-0.31*	-0.16*	0.09 <sup>ns</sup>	-0.38*	0.03 <sup>ns</sup>	0.13*	<b>1.00</b>	-0.26*	0.53*	-0.16*
<b>(15) Lig P</b>	0.44*	0.13*	-0.17*	-0.53*	0.47*	-0.31*	-0.28*	-0.29*	-0.14*	0.28*	-0.12*	0.85*	-0.79*	-0.25*	<b>1.00</b>	0.22*	0.93*
<b>(16) Cellulose</b>	0.47*	-0.12*	0.09 <sup>ns</sup>	0.26*	-0.29*	0.04 <sup>ns</sup>	0.27*	0.28*	0.21*	-0.52*	0.12*	-0.04 <sup>ns</sup>	0.21*	0.43*	-0.49*	<b>1.00</b>	0.32*
<b>(17) Silica</b>	0.46*	0.10*	-0.15*	-0.50*	0.41*	-0.31*	-0.27*	-0.28*	-0.17*	0.29*	-0.08 <sup>ns</sup>	0.86*	-0.83*	-0.11*	0.90*	-0.37*	<b>1.00</b>

<sup>ns</sup> Not-significant at 1% of probability by *t*-Student test; \* *P*-value < 0.01; NER – number of ears per raceme, IES – mode of insertion for ears, CEST – color of stigma, CANT – color of anther, DTF – number of days to flowering, NPP – number of panicles per plant, GM – Green matter and TDMY – total dry matter yield. Reg – Regrowth, CP – crude protein, NDF – Neutral detergent fiber; ADF – Acid detergent fiber and IVOMD – *in vitro* digestibility of organic matter, Lig S and Lig P – Lignin.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As primeiras avaliações em *B. ruzizensis* tetraploide sexual demonstraram a existência de variabilidade genética entre as progênies da espécie para os caracteres agronômicos e de valor nutricional, as quais poderão permitir a continuidade do melhoramento e realização de futuros ciclos de seleção, que resultará em ganho genético com seleção.

A avaliação da população sexual de *B. ruzizensis* em testes de progênies que visou prever os valores genéticos dos indivíduos e utilizou métodos estatísticos e técnicas de genética quantitativa, de forma mais acurada possível, através de metodologia de modelos mistos com o uso do software Selegen – REML/BLUP, propiciou importantes informações das influências ambientais sobre os fenótipos. Também tornou possível prever fenótipos ainda não observados e que poderão ser de grande importância para o programa de melhoramento da espécie.

Os resultados observados dos parâmetros genéticos avaliados para caracteres agronômicos, tais como a herdabilidade, repetibilidade e correlações genéticas, antes desconhecidos para *B. ruzizensis*, serão critérios de seleção fundamentais para a definição da manutenção ou não, de genótipos no programa de melhoramento e para desenvolver novas estratégias de melhoramento em *B. ruzizensis*.

Para uma seleção multicausal, optou-se por dar pesos econômicos aos diferentes caracteres usando índices, o que resultou em ganhos genéticos simultâneos e poderá contribuir com um impacto econômico no setor produtivo.

Baseou-se os índices de seleção nas correlações genéticas entre os vários caracteres e na produção total de proteína digestível na rebrota. A comparação dos índices de seleção para uso no melhoramento de forrageiras tropicais vem sendo utilizada mais recentemente.

Os indivíduos ranqueados com base nos seus valores genéticos para cada caracter e selecionados simultaneamente para os vários caracteres foram comparados por cinco índices, os quais consideraram os caracteres: produção de matéria seca total por planta, capacidade de rebrota e proteína bruta, nos períodos de maior e menor pluviosidade, além da produção anual. Para evitar o estreitamento da base genética da população sexual, adotou-se como estratégia a seleção em dois níveis de intensidade. Quando foram comparados os cinco índices de seleção adotados, foi observado que existiam diferenças entre os indivíduos selecionados para cada um, pois apenas cinco indivíduos foram comuns a todos os índices avaliados com intensidade de seleção a 1%. Com base no ranking de cada um dos cinco índices com intensidades de seleção, respectivamente, de 0,01%, foi possível compor uma população de indivíduos elite para cruzamentos, com indivíduos apomíticos selecionados de *B. brizantha* e *B. decumbens* e de 0,05% para compor a população de melhoramento intrapopulacional de *B. ruziziensis*.

Índices de seleção 3, 4 e 5 resultaram em ganhos de seleção mais altos e foram capazes de selecionar indivíduos com produção de forragem de forma equitativa entre a estação úmida e seca.

Os mesmos índices mostraram que há uma grande variabilidade genética disponível para seleção e ganho de produção ao mesmo tempo, durante as estações secas e úmidas, e selecionou quatro indivíduos (3, 563, 840 e 379). É importante detectar-se precocemente a variabilidade genética, pois essa poderá ser

utilizada em futuros ciclos de melhoramento, sem estreitamento da base genética disponível para o melhoramento da espécie.

A maior variação genética (> 40%), apresentada pelos caracteres agronômicos significa maior variação genética disponível para seleção em produção de biomassa do que para caracteres de valor nutricional. Os coeficientes de variações genéticas relativas foram menores do que 1,0 mas, apesar disso, a acurácia para caracteres agronômicos de produção foi de elevada magnitude (> 85%) e pode ser devido ao número elevado de repetições utilizadas na experimentação. Não se pode dizer o mesmo para os caracteres de valor nutricional, devido à menor variabilidade genética expressa por eles.

Houve uma correlação negativa entre o teor de proteína bruta e caracteres de produção de forragem que devem ser adequadamente ponderados na seleção de genitores, pois buscam-se métodos de seleção que proporcionem ganhos simultâneos em vários caracteres de interesse, de modo a obter ganhos genéticos para ambos os caracteres.

Houve coincidência de aproximadamente 60% dos melhores indivíduos em todos os cortes, fato que fortalece o grau de acurácia do experimento.

Todos os caracteres resultaram em ganho de até 28% em relação à média da população, com exceção para a proteína bruta. Nenhum ganho por seleção foi obtido para proteína bruta com nenhum dos índices de seleção aplicados. Esse resultado era esperado, uma vez que os valores encontrados foram altos e variaram pouco e devido a correlação genética negativa elevada entre a proteína bruta e os caracteres de produção de biomassa. *B. ruzizensis* é reconhecida como de boa qualidade entre as braquiárias e os valores genéticos médios de proteína bruta em



todos os índices foram superiores às médias fenotípicas encontradas para outras forrageiras.

A utilização dos índices de seleção permitiu a ponderação dos caracteres usados como critérios de seleção para a obtenção dos melhores resultados no objetivo final no melhoramento de *B. ruziziensis*. Dessa forma, os indivíduos que irão compor a população do próximo ciclo de melhoramento atendem a duas condições essenciais para o sucesso do melhoramento: presença de variabilidade genética e média alta em múltiplos caracteres de importância forrageira. Com base nos resultados dos rankings dos indivíduos em cada índice, verificou-se a ampla variabilidade genética que permite direcionar a seleção para ganhos em caracteres específicos e a distribuição da produção forrageira ao longo do ano.

A distribuição da produção forrageira ao longo dos períodos de maior e menor pluviosidade anual, que determina um bom desempenho animal nas pastagens e sua sustentabilidade ainda precisa ser investigada nos híbridos.

Para a tomada de decisão sobre os melhores caracteres a serem usados como critérios de seleção devem ser levados em conta, além dos pesos atribuídos, o modo de herança dos caracteres por meio da herdabilidade, da repetibilidade e das correlações genéticas entre eles.

Muitas respostas ainda são desconhecidas para as forrageiras tropicais, pois o melhoramento dessas é bastante recente, em comparação com as forrageiras temperadas. A validação da eficiência dos procedimentos de seleção é ainda necessária.

Da seleção de genitores e indivíduos das progênes na população sexual, avaliada experimentalmente, com base em seus valores genéticos preditos para os caracteres de valor agrônômico e com base em dois índices de seleção, concluiu-se

que não houve vantagem em pesar separadamente características avaliadas na estação úmida e na estação seca em termos de ganhos com índices de seleção geral. Os índices que abordaram caracteres no ano todo resultou em uma melhor distribuição da produção de forragem ao longo do ano do que os índices que foram separados nas duas estações.

Da análise da fenologia do florescimento dos indivíduos selecionados no teste de progênies de *B. ruziziensis* para promover cruzamentos controlados com materiais genéticos apomíticos de *B. decumbens* e *B. brizantha*, verificou-se que indivíduos com florescimento esparsos apresentaram valores genéticos de maior magnitude para os caracteres produção de matéria seca total e número total de panículas por planta, do que indivíduos com florescimento precoce ou tardio.

As diferenças e as correlações genéticas entre os caracteres associados ao florescimento, agrônomicos e de qualidade nutricional, bem como as suas herdabilidades, no sentido restrito, devem ser consideradas no melhoramento intrapopulacional e na seleção recorrente recíproca.

A *B. ruziziensis* apresentou alta amplitude em número de dias em flor, com um intervalo que chegou a 63 dias entre a primeira e a última emissão de inflorescências. Verificou-se ainda um percentual de indivíduos que floresceram ao mesmo tempo (simultaneamente), apresentando sincronia de florescimento, o que facilitará a recombinação entre esses genitores.

Com base nos resultados alcançados nesta pesquisa, foi possível identificar genótipos superiores candidatos a cruzamentos com apomíticos elite a fim de gerar híbridos superiores visando futuros lançamentos de novas cultivares. Alguns ensaios primordiais com esses genitores devem abranger a resistência às cigarrinhas das pastagens e às doenças, à produção de sementes e à adaptação a diferentes

condições de solo e clima. Mais a frente, quando forem gerados híbridos apomíticos, a pesquisa deverá obter respostas dessas forrageiras ao desempenho, à aceitabilidade e à produtividade animal.

Os cruzamentos interespecíficos do complexo agâmico *B. brizantha*, *B. decumbens* e *B. ruziziensis* preveem num futuro próximo, o lançamento de novas cultivares, oriundas de cruzamentos de *B. ruziziensis* com as cultivares apomíticas.

O melhoramento genético de forrageiras tropicais é essencial para possibilitar maior produtividade e eficiência na produção de proteína animal, a fim de alimentar a população humana, em crescimento. Faz-se necessária a geração de mais pesquisas e com um retorno mais rápido, pois são muitos anos até o lançamento de uma cultivar no mercado, considerando o agravo da rapidez de ocorrência das mudanças climáticas e da urgência que tem-se nas mudanças para a efetivação da sustentabilidade do planeta.

Híbridos de maior produtividade e melhor valor nutritivo resultam em maior produtividade por área e eficiência na produção de proteína animal com menor emissão de gases de efeito estufa, portanto, com maior sustentabilidade.

Esta pesquisa colaborou na promoção do melhoramento genético de forrageiras tropicais, pois quantificou a variabilidade intrapopulacional em progênies de *B. ruziziensis* e selecionou híbridos, com base em seus valores genéticos para seguirem no programa de melhoramento de *Brachiaria*.

Os indivíduos que foram selecionados durante esta pesquisa, poderão ser utilizados em cruzamentos controlados com espécies apomíticas de *Brachiaria* e, também, em cruzamentos intraespecíficos em um novo ciclo de seleção.

## NORMAS PARA A SUBMISSÃO DE ARTIGOS

### Normas da Revista **CBAB - Crop Breeding and applied Biotechnology**

<http://www.sbmp.org.br/cbab/siscbab/modules/tiny3/>

#### Instructions for authors

##### General policy and scope of the journal

The **CBAB - CROP BREEDING AND APPLIED BIOTECHNOLOGY** (ISSN 1518-7853, print version, ISSN 1984-7033, on line version) – is the official quarterly journal of the Brazilian Society of Plant Breeding ([www.sbmp.org.br](http://www.sbmp.org.br)), abbreviated CROP BREED APPL BIOTECHNOL. It is indexed in ISI Thomson Reuters, Scopus, AGRIS, CAB International Abstracts, Biosys, Latindex, Periódica, Chemical Abstracts Service, Agricola, Agrobase, Wilson, Ebsco, DOAJ, Acervo Documental da Embrapa and Portal da Capes. It publishes original scientific articles which contribute to the scientific and technological development of plant breeding and agriculture. Articles should be to do with basic and applied research on improvement of perennial and annual plants, within the fields of genetics, conservation of germplasm, biotechnology, genomics, cytogenetics, experimental statistics, seeds, food quality, biotic and abiotic stress, and correlated areas. The article must be unpublished. Simultaneous submitting to another periodical is ruled out. Authors are held solely responsible for the opinions and ideas expressed, which do not necessarily reflect the view of the Editorial board. However, the Editorial board reserves the right to suggest or ask for any modifications required. Complete or partial reproduction of articles is permitted, provided the source is cited.

#### Subscription information

Please ask for the price list in the US \$. Mail orders and inquiries to [cbabjournal@gmail.com](mailto:cbabjournal@gmail.com)

#### Article

The **CBAB** publishes exclusively in English, however reserves authors the possibility to submit manuscripts in Portuguese and have them translated after approval. The onus of the translation is responsibility of the author, although the **CBAB** suggests the journal's official translator. If the article is submitted in English, it must mandatorily be reviewed in linguistic terms after approval, which must be made exclusively by the journal's official translators, being the onus of this service responsibility of the author. Contributions are submitted via WEB, access <http://www.sbmp.org.br/cbab/siscbab/index.php> clicking **Submission**, whereupon the article registration system will automatically ask for a password and author's e-mail. **Delete all author and correspondence information from the manuscript file.** As the Journal has a blind review policy, authors should not reveal their identities in the manuscript. The author will be asked to enter this information in a separate form, during the submission process before uploading the manuscript file. The author

can monitor the manuscript's stages of proceeding by his/her e-mail and personal password. Expert *ad hoc* reviewers evaluate the manuscripts to assist the Editorial Board with the final decision of approval, modification, or disapproval.

The complete manuscript should comply with the following sequence: title, abstract, key words, introduction, material and methods, results and discussion, acknowledgements, título, resumo, palavras-chave, references, and tables and black-and-white figures. Colored illustrations to the debit of the corresponding author are allowed. The manuscript must be typed in Word for Windows, version 6.0 or upper, in times new roman 12, double spacing, format A4, with 20 mm margins and consecutive top right numbering. The double spaced text must not exceed 18 pages, including separately placed tables and figures (one a page) in the end of text. All the equations, models and simbols should be made in Microsoft Equation. The title should be clear, concise, and express the gist of the article. It should not surpass 15 words, be typed in bold, 14, left, with initial upper case letters. The authors' complete names, and their institutional addresses should be entered in the proof read. The abstract, as well as the resumo, should not contain more than 150 words. A maximum of 5 key words, different from the title, are allowed. The introduction should include a brief literature review on subject and aims of the study. Material and Methods must enable other researchers to repeat the experience. Preferentially, Results and Discussion should be presented together for easiness of reading. Acknowledgements should be succinct, and limited to effective co-workers and financing agencies. The Resumo must be headed by the title of the article in Portuguese.

Be carefull about the references. Never cite summaries of events and theses, or any other unpublished literature. These measures will help shape a manuscript that will be a credit both to your article and to the journal. Citations mentioned in the text by the last name of the author and the year (for instance, Liu 1998, Pereira and Amaral Júnior 2001, William et al. 1990) are to be alphabetically listed in the item References, according to the following examples:

*Articles in periodicals:*

Pereira MG and Amaral Júnior AT (2001) Estimation of genetic components in popcorn based on the nested design. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** 1: 3-10.

*Book:*

Ramalho MAP, Ferreira DF and Oliveira AC (2000) **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. Editora UFLA, Lavras, 326p.

*Chapter of book:*

Sakiyama NS, Pereira AA and Zambolim L (1999) Melhoramento do café arábica. In: Borém A (ed.) **Melhoramento de espécies cultivadas**. Editora UFV, Viçosa, p. 189-204.

*Congress:*

Frey KJ (1992) Plant breeding perspectives for the 1990s. In: Stalker HT and Murphy

JP (eds.) **Proceedings of the Symposium on Plant Breeding in the 1990s**. CAB, Wallingford, p. 1-13.

The **CBAB** publishes, besides articles, other text forms, equally subjected to the discretion of ad hoc reviewers.

Authors of articles in the journal **CBAB - CROP BREEDING AND APPLIED BIOTECHNOLOGY** profit from the following benefits:

- Digital submission and revision of articles
- Expeditious publication: average time of 5 months, in 2012
- Articles available in pdf on the WEB

Send your article

<http://www.sbmp.org.br/cbab/siscbab/index.php> clicking **Submission**

**Thank you for choosing the CBAB.**

**Normas da Revista Euphytica**

<http://www.springer.com/life+sciences/plant+sciences/journal/10681>

### **Instructions for Authors**

#### **Manuscript Submission**

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

#### **Permissions**

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

#### **Online Submission**

Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

#### **Title Page**

The title page should include:

The name(s) of the author(s)

A concise and informative title

The affiliation(s) and address(es) of the author(s)

The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

#### **Abstract**

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

## **Keywords**

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

## **Text**

### **Text Formatting**

Manuscripts should be submitted in Word.

Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.

Use italics for emphasis.

Use the automatic page numbering function to number the pages.

Do not use field functions.

Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.

Use the table function, not spreadsheets, to make tables.

Use the equation editor or MathType for equations.

Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

[LaTeX macro package \(zip, 182 kB\)](#)

### **Headings**

Please use no more than three levels of displayed headings.

### **Abbreviations**

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

### **Footnotes**

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

### **Acknowledgments**

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

### **Scientific style**

Please always use internationally accepted signs and symbols for units (SI units).

### **Scientific style**

Nomenclature: Insofar as possible, authors should use systematic names similar to those used by Chemical Abstract Service or IUPAC.

### **Scientific style**

Genus and species names should be in italics.

### **Scientific style**

Please use the standard mathematical notation for formulae, symbols etc.:

Italic for single letters that denote mathematical constants, variables, and unknown quantities

Roman/upright for numerals, operators, and punctuation, and commonly defined functions or abbreviations, e.g., cos, det, e or exp, lim, log, max, min, sin, tan, d (for derivative)

Bold for vectors, tensors, and matrices.

## **References**

### **Citation**

Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples:  
Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990).

This result was later contradicted by Becker and Seligman (1996).

This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995; Kelso and Smith 1998; Medvec et al. 1999).

### **Reference list**

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work.

### **Journal article**

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. doi: 10.1007/s00421-008-0955-8

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 965:325–329

Article by DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*. doi:10.1007/s001090000086

### **Book**

South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London

### **Book chapter**

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

### **Online document**

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007

### **Dissertation**

Trent JW (1975) *Experimental acute renal failure*. Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal’s name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see

[ISSN LTWA](#)

If you are unsure, please use the full journal title.

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and reference list.

[EndNote style \(zip, 2 kB\)](#)

### **Tables**

All tables are to be numbered using Arabic numerals.

Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.

Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.



Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

#### Artwork and Illustrations Guidelines

##### **Electronic Figure Submission**

Supply all figures electronically.

Indicate what graphics program was used to create the artwork.

For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

##### **Line Art**

Definition: Black and white graphic with no shading.

Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.

All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.

Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

##### **Halftone Art**

Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.

Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

##### **Combination Art**

Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.

Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

##### **Color Art**

Color art is free of charge for online publication.

If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.

If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.

Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

##### **Figure Lettering**

To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).

Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).

Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.

Avoid effects such as shading, outline letters, etc.

Do not include titles or captions within your illustrations.

##### **Figure Numbering**

All figures are to be numbered using Arabic numerals.

Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.

Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).

If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

### **Figure Captions**

Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.

Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type.

No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.

Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.

Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

### **Figure Placement and Size**

Figures should be submitted separately from the text, if possible.

When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.

For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

### **Permissions**

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

### **Accessibility**

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)

Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements)

Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

### **Electronic Supplementary Material**

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

### **Submission**

Supply all supplementary material in standard file formats.

Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.

To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

## **Audio, Video, and Animations**

Resolution: 16:9 or 4:3

Maximum file size: 25 GB

Minimum video duration: 1 sec

Supported file formats: avi, wmv, mp4, mov, m2p, mp2, mpg, mpeg, flv, mxf, mts, m4v, 3gp

## **Text and Presentations**

Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.

A collection of figures may also be combined in a PDF file.

## **Spreadsheets**

Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended.

If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

## **Specialized Formats**

Specialized format such as .pdb (chemical), .vrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

## **Collecting Multiple Files**

It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

## **Numbering**

If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.

Refer to the supplementary files as "Online Resource", e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4".

Name the files consecutively, e.g. "ESM\_3.mpg", "ESM\_4.pdf".

## **Captions**

For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

## **Processing of supplementary files**

Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

## **Accessibility**

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material

Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

Does Springer provide English language support?

Manuscripts that are accepted for publication will be checked by our copyeditors for spelling and formal style. This may not be sufficient if English is not your native language and substantial editing would be required. In that case, you may want to have your manuscript edited by a native speaker prior to submission. A clear and concise language will help editors and reviewers concentrate on the scientific content of your paper and thus smooth the peer review process.

The following editing service provides language editing for scientific articles in all areas Springer

publishes in:

[Edanz English editing for scientists](#)

Use of an editing service is neither a requirement nor a guarantee of acceptance for publication.

Please contact the editing service directly to make arrangements for editing and payment.

### Edanz Editing Global

#### Ethical Responsibilities of Authors

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) the journal will follow the COPE guidelines on how to deal with potential acts of misconduct.

Authors should refrain from misrepresenting research results which could damage the trust in the journal, the professionalism of scientific authorship, and ultimately the entire scientific endeavour. Maintaining integrity of the research and its presentation can be achieved by following the rules of good scientific practice, which include:

The manuscript has not been submitted to more than one journal for simultaneous consideration.

The manuscript has not been published previously (partly or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work (please provide transparency on the re-use of material to avoid the hint of text-recycling (“self-plagiarism”)).

A single study is not split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (e.g. “salami-publishing”).

No data have been fabricated or manipulated (including images) to support your conclusions

No data, text, or theories by others are presented as if they were the author’s own (“plagiarism”). Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks are used for verbatim copying of material, and permissions are secured for material that is copyrighted.

**Important note:** the journal may use software to screen for plagiarism.

Consent to submit has been received explicitly from all co-authors, as well as from the responsible authorities - tacitly or explicitly - at the institute/organization where the work has been carried out, **before** the work is submitted.

Authors whose names appear on the submission have contributed sufficiently to the scientific work and therefore share collective responsibility and accountability for the results.

In addition:

Changes of authorship or in the order of authors are not accepted **after** acceptance of a manuscript.

Requesting to add or delete authors at revision stage, proof stage, or after publication is a serious matter and may be considered when justifiably warranted. Justification for changes in authorship must be compelling and may be considered only after receipt of written approval from all authors and a convincing, detailed explanation about the role/deletion of the new/deleted author. In case of changes at revision stage, a letter must accompany the revised manuscript. In case of changes after acceptance or publication, the request and documentation must be sent via the Publisher to the Editor-in-Chief. In all cases, further documentation may be required to support your request. The decision on accepting the change rests with the Editor-in-Chief of the journal and may be turned down. Therefore authors are strongly advised to ensure the correct author group, corresponding author, and order of authors at submission.

Upon request authors should be prepared to send relevant documentation or data in order to verify the validity of the results. This could be in the form of raw data, samples, records, etc.

If there is a suspicion of misconduct, the journal will carry out an investigation following the COPE guidelines. If, after investigation, the allegation seems to raise valid concerns, the accused author will be contacted and given an opportunity to address the issue. If misconduct has been established beyond reasonable doubt, this may result in the Editor-in-Chief's implementation of the following measures, including, but not limited to:

If the article is still under consideration, it may be rejected and returned to the author. If the article has already been published online, depending on the nature and severity of the infraction, either an erratum will be placed with the article or in severe cases complete retraction of the article will occur. The reason must be given in the published erratum or retraction note.

The author's institution may be informed.

#### Compliance with Ethical Standards

To ensure objectivity and transparency in research and to ensure that accepted principles of ethical and professional conduct have been followed, authors should include information regarding sources of funding, potential conflicts of interest (financial or non-financial), informed consent if the research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals.

Authors should include the following statements (if applicable) in a separate section entitled "Compliance with Ethical Standards" when submitting a paper:

Disclosure of potential conflicts of interest

Research involving Human Participants and/or Animals

Informed consent

Please note that standards could vary slightly per journal dependent on their peer review policies (i.e. single or double blind peer review) as well as per journal subject discipline. Before submitting your article check the instructions following this section carefully.

The corresponding author should be prepared to collect documentation of compliance with ethical standards and send if requested during peer review or after publication.

The Editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned guidelines. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the above-mentioned guidelines.

Disclosure of potential conflicts of interest

Disclosure of potential conflicts of interest

Authors must disclose all relationships or interests that could have direct or potential influence or impart bias on the work. Although an author may not feel there is any conflict, disclosure of relationships and interests provides a more complete and transparent process, leading to an accurate and objective assessment of the work. Awareness of a real or perceived conflicts of interest is a perspective to which the readers are entitled. This is not meant to imply that a financial relationship with an organization that sponsored the research or compensation received for consultancy work is inappropriate. Examples of potential conflicts of interests **that are directly or indirectly related to the research** may include but are not limited to the following:

Research grants from funding agencies (please give the research funder and the grant number)

Honoraria for speaking at symposia

Financial support for attending symposia  
Financial support for educational programs  
Employment or consultation  
Support from a project sponsor  
Position on advisory board or board of directors or other type of management relationships  
Multiple affiliations

Financial relationships, for example equity ownership or investment interest  
Intellectual property rights (e.g. patents, copyrights and royalties from such rights)  
Holdings of spouse and/or children that may have financial interest in the work  
In addition, interests that go beyond financial interests and compensation (non-financial interests) that may be important to readers should be disclosed. These may include but are not limited to personal relationships or competing interests directly or indirectly tied to this research, or professional interests or personal beliefs that may influence your research.

The corresponding author collects the conflict of interest disclosure forms from all authors. In author collaborations where formal agreements for representation allow it, it is sufficient for the corresponding author to sign the disclosure form on behalf of all authors. Examples of forms can be found [here](#):

The corresponding author will include a summary statement in the text of the manuscript in a separate section before the reference list, that reflects what is recorded in the potential conflict of interest disclosure form(s).

See below examples of disclosures:

**Funding:** This study was funded by X (grant number X).

**Conflict of Interest:** Author A has received research grants from Company A. Author B has received a speaker honorarium from Company X and owns stock in Company Y. Author C is a member of committee Z.

If no conflict exists, the authors should state:

Conflict of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

After acceptance

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer's web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice, offprints, or printing of figures in color.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

### **Open Choice**

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink.

### Springer Open Choice

#### **Copyright transfer**

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

**Offprints**

Offprints can be ordered by the corresponding author.

**Color illustrations**

Online publication of color illustrations is free of charge. For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs.

**Proof reading**

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

**Online First**

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cit