

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**ANÁLISES REPRODUTIVAS E AVALIAÇÕES AGRONÔMICAS DE
HÍBRIDOS INTRAESPECÍFICOS DE *Paspalum notatum*.**

KARINE CRISTINA KRYCKI
Engenheira Agrônoma/UFRGS
Mestra em Zootecnia/UFRGS

Tese apresentada como um dos requisitos à obtenção do grau de
Doutora em Zootecnia
Área de Concentração Plantas Forrageiras

Porto Alegre (RS), Brasil
Março de 2019

CIP - Catalogação na Publicação

Krycki, Karine Cristina
ANÁLISES REPRODUTIVAS E AVALIAÇÕES AGRONÔMICAS DE
HÍBRIDOS INTRAESPECÍFICOS DE *Paspalum notatum*. /
Karine Cristina Krycki. -- 2019.
83 f.
Orientadora: Carine Simioni.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. Melhoramento vegetal. 2. Análises reprodutivas.
3. Avaliações agronômicas. 4. *Paspalum notatum*. I.
Simioni, Carine, orient. II. Título.

Karine Cristina Krycki
Mestre em Zootecnia

TESE

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

DOUTORA EM ZOOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovada em: 28.03.2019
Pela Banca Examinadora

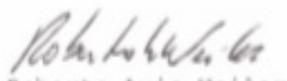
Homologado em: 22/05/2019
Por



CARINE SIMIONI
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientador



DANILO PEDRO STREIT JR.
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia



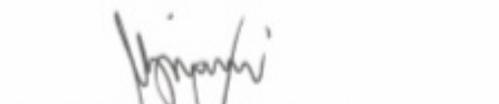
Roberto Luis Weiler
UFRGS



Elaine Biondo
UERGS



Adriana Helena Lau
UERGS



CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade de Agronomia

DEDICATÓRIA

Angela, Sthéfany e João
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a natureza por ser fonte da vida em todas suas formas.

Agradeço ao meu país por investir recursos na formação em nível de graduação e pós-graduação de qualidade nas instituições federais.

Agradeço a CAPES pela bolsa de estudos concedida durante o doutoramento.

Agradeço a Universidade Federal do Rio Grande do Sul por ter sido minha segunda casa durante minha formação acadêmica desde a graduação.

Agradeço a todos os professores com os quais tive oportunidade de aprender, cada um agregando conhecimento nas mais variadas etapas durante toda minha vida. Agradecimento especial a minha orientadora Carine Simioni, que me iniciou na vida científica desde a graduação, sempre auxiliando em todos os momentos desta jornada. Também agradeço aos professores Miguel Dall’Agnol, Roberto Weiler e André Brunet por fazerem parte desta caminhada, ajudando e sempre colaborando para que minha formação fosse a melhor possível.

Agradeço aos colegas de pós-graduação pela ajuda recebida durante a execução do presente trabalho, Cleber, Eder, Larissa, Mariângela, Sílvio, Tamyris.

Agradeço aos bolsistas de iniciação científica que participaram em diversas etapas deste trabalho, Douglas, Jessica, Lauren, Lisiane, Tassis, Thulio, Vitória e demais colegas.

Agradeço a minha família por todo apoio que a mim foi ofertado durante toda minha formação, toda colaboração e incentivo irrestrito, principalmente a minha mãe Angela, minha irmã Sthéfany e meu esposo João Garibaldi. Por fim, agradeço aos meus ancestrais que possibilitaram que hoje eu estivesse aqui sendo quem sou e trabalharam para que eu tenha chegado onde cheguei, “*sobre ombros de gigantes*”.

Análises reprodutivas e avaliações agronômicas de híbridos intraespecíficos de *Paspalum notatum*.¹

Autor: Karine Cristina Krycki

Orientador: Carine Simioni

Resumo: *Paspalum notatum*, gramínea nativa do Rio Grande do Sul, se destaca pelo elevado valor forrageiro e é importante em programas de melhoramento, pois se reproduz tanto de forma apomítica quanto sexual. Seu uso nas pastagens pode ser incrementado e explorado economicamente, após avaliações reprodutivas conduzidas em laboratório, e cultivos a campo, com a finalidade de selecionar os genótipos mais produtivos e estáveis reprodutivamente. O presente trabalho teve como objetivo avaliar uma progênie híbrida intraespecífica de *P. notatum* quanto ao modo de reprodução, viabilidade polínica e comportamento meiótico e avaliar o seu potencial produtivo em ensaios conduzidos a campo. Após comprovada a estabilidade reprodutiva e selecionados os híbridos com comprovado valor agronômico, será possível viabilizar novos ciclos de cruzamentos artificiais controlados. A poliploidização de plantas sexuais diploides foi usada em cruzamentos intraespecíficos entre genótipos apomíticos e sexuais, que gerou a progênie híbrida estudada. As avaliações agronômicas foram conduzidas durante três anos, comparando a progênie com a cultivar “Pensacola”, o ecótipo “Bagual” e as plantas poliploides artificiais ‘WKS3’, ‘WKS63’ e ‘WKS92’. As análises estatísticas foram efetuadas com o programa estatístico R, com os testes de Scott-Knott a 5% de significância. Todas as 29 plantas obtidas foram classificadas como apomíticas ou sexuais e apresentaram alta viabilidade polínica, a maioria acima de 90%. As plantas que mais produziram MSF (massa seca de folhas) foram as nominadas ‘KF4’, ‘KF17’, ‘KM2’ e ‘KD9’, produzindo, em média, 34, 24, 21 e 17%, respectivamente, a mais de massa seca do que o ecótipo mais produtivo “Bagual”. Os híbridos com características superiores, como o maior rendimento de forragem, passarão por etapas adicionais no programa de melhoramento e poderão ser candidatas a novas cultivares.

Palavras-chave: Modo de reprodução, comportamento meiótico, viabilidade polínica, potencial agronômico, cruzamentos intraespecíficos em *Paspalum notatum*.

¹Tese de Doutorado em Zootecnia – Plantas Forrageiras, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (85 f.) Março de 2019.

Reproductive analyses and agronomic evaluation of intraespecific hybrids de *Paspalum notatum*.¹

Author: Karine Cristina Krycki

Adviser: Carine Simioni

Abstract: *Paspalum notatum*, native grass of Rio Grande do Sul, stands out for its high forage value and is important in breeding programs, as it reproduces both apomictically and sexually. Its use in the pastures can be increased and economically exploited, after reproductive evaluations conducted in the laboratory, and field crops, in order to select the most productive and reproductively stable genotypes. The aim of the present work was to evaluate an intraspecific hybrid progeny of *P. notatum* on reproduction mode, pollen viability and meiotic behavior and to evaluate its productive potential in field trials. After proven reproductive stability and selected hybrids with proven agronomic value, it will be possible to make possible new cycles of controlled artificial crosses. Polyploidization of diploid sex plants was used in intraspecific crosses between apomictic and sexual genotypes, which generated the hybrid progeny studied. The agronomic evaluations were conducted over three years, comparing the progeny with the "Pensacola" cultivar, the "Bagual" ecotype and the artificial polyploid plants 'WKS3', 'WKS63' and 'WKS92'. Statistical analyzes were performed with the statistical program R, with Scott-Knott's tests at 5% significance. All 29 plants obtained were classified as apomictic or sexual and presented high pollen viability, most of them above 90%. The plants that produced the most MSF were: 'KF4', 'KF17', 'KM2' and 'KD9', producing on average 34, 24, 21 and 17%, respectively, of more than than the most productive "Bagual" ecotype. Hybrids with superior characteristics, such as higher forage yield, will go through additional stages in the breeding program and may be candidates for new cultivars.

Keywords: Mode of reproduction, meiotic behaviour, pollen viability, agronomic evaluation, intraspecific crosses.

¹Doctoral thesis in Forage Science - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil, (85 p.). March, 2019.

SUMÁRIO

1. CAPÍTULO I	13
1.1 INTRODUÇÃO	14
1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
1.2.1. O campo nativo do Rio Grande do Sul	16
1.2.2. O gênero <i>Paspalum</i>	17
1.2.3. A espécie <i>Paspalum notatum</i>	19
1.2.4. Apomixia e nível de ploidia de <i>P. notatum</i>	20
1.2.5. Análises reprodutivas como ferramenta para o melhoramento	22
1.2.6. Avaliações agronômicas.....	23
1.2.7. Melhoramento genético de <i>Paspalum notatum</i>	24
1.2.8. Histórico do programa de melhoramento genético de <i>P.</i> <i>notatum</i>	26
1.3. HIPÓTESES E OBJETIVOS	28
1.3.1. Hipóteses	28
1.3.2. Objetivos	28
2. CAPÍTULO II¹	29
RESUMO.....	30
Introdução	31
Material e métodos.....	31
Avaliações do modo de reprodução	32
Análises meióticas e viabilidade polínica.....	32
Resultados e discussão	32
Análise do Modo de Reprodução	32
Análises meióticas.....	33
Viabilidade polínica.....	34
Conclusões	35
Referências Bibliográficas.....	36
3. CAPÍTULO III²	48
RESUMO	49
Introdução	50

Material e Métodos.....	51
Material.....	51
Avaliações agronômicas.....	51
Cruzamentos intraespecíficos	53
Análise estatística e seleção dos híbridos.....	53
Resultados e Discussão.....	53
Conclusões	56
Referências bibliográficas	57
4. CAPÍTULO IV.....	67
Considerações finais.....	68
REFERÊNCIAS.....	69
6. VITA	77
7. APÊNDICES.....	78

RELAÇÃO DE TABELAS

2. CAPÍTULO II.....30

Tabela 1. Número e porcentagem (%) de sacos meióticos (S), apomíticos (A), que apresentam sacos sexuais e apomíticos no mesmo ovário (SA), não identificados (NI), total de ovários analisados (T) e modo de reprodução (MR) das plantas híbridas F1.....39

Tabela 2. Configurações meióticas da fase de diacinese (prófase I) dos híbridos F1 apomíticos.....42

Tabela 3. Anormalidades meióticas registradas nos indivíduos de modo de reprodução apomítico da progênie híbrida F1.....43

Tabela 4. Viabilidade polínica dos genótipos híbridos da progênie F1, apomíticos e sexuais.....47

3. CAPÍTULO III48

Tabela 1. Hábito de crescimento (E=ereto, SE=semi-ereto, P=prostrado), médias das notas tolerância ao frio e geada (TFG) e de vigor pré-primavera (VPP) dos híbridos e de seus genitores durante o período de três anos.....59

Tabela 2. Correlação pelo coeficiente de Pearson entre as variáveis diâmetro (DIAM), número de perfilhos (PERF), massa seca de folhas (MSF), altura (ALT), massa seca total (MST), massa seca de colmo (MSC), número de inflorescências (NINFLO).....60

Tabela 3. Médias dos três anos das variáveis mensuradas a campo nas datas dos cortes ALT (altura), DIAM (diâmetro), PERF (número de perfilhos) e NINFLO (número de inflorescências) por genótipo (Gen).....61

Tabela 4. Somatório das produções em gramas (g) da MSC (Massa Seca de Colmos), MSI (Massa Seca de Inflorescências) e MST (Massa Seca Total) do total de três anos por genótipo (Gen).....62

Tabela 5. Médias das produções em gramas (g) da MSF (Matéria Seca de Folhas) por ano e somatório do total de três anos por genótipo (Gen)..... 65

Tabela 6. Número de sementes heteróticas e endogâmicas geradas no cruzamento realizado no verão 2016/2017 e seus respectivos genitores.....66

RELAÇÃO DE FIGURAS

2. CAPÍTULO II30

Figura 1. Morfologia dos sacos embrionários. **a)** Imagem de ovário sexual da planta KE1 com presença de antípodas (1) e núcleos polares (2). **b)** Imagem de ovário apomítico da planta KF16 apresentando núcleos polares (1 e 2) e sacos múltiplos (3). **c)** Imagem de ovário da planta KF8 apresentando saco embrionário misto: apomíticos (4 e 5) e sexual (1) com presença de antípodas (2) e núcleos polares (3). Escala 10 µm.....40

Figura 2. Principais anormalidades meióticas da progênie. **a)** Diacinese (indivíduo KD1). Nota-se presença de associações quadrivalentes (setas). **b)** Metáfase I (indivíduo KF3) com ascensão precoce (setas). **c)** Anáfase I (indivíduo KC1) apresentando ponte cromossômica (seta). **d)** Telófase I (indivíduo KC1) normal. **e)** Metáfase II (indivíduo KF3) com assincronia e apresentando ascensão precoce (seta). **f)** Anáfase II (indivíduo KN3) com assincronia (setas). **g)** Telófase II (indivíduo KD2) normal. **h)** Microsporócitos (indivíduo KN3) apresentando tétrades e políade (seta). **i)** Grãos de pólen viável e inviável (seta). Escala 10 µm.....41

3. CAPÍTULO III.....48

Figura 1. Gráfico do somatório da MSF (Matéria Seca de Folhas) em gramas (g) dos cinco genótipos mais produtivos e dos cinco genótipos menos produtivos durante os três anos de avaliação do experimento.....63

Figura 2. Gráfico do somatório da MST em gramas (g) dos cinco genótipos mais produtivos e dos cinco menos produtivos durante os três anos de avaliação do experimento.....64

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	Altura
Apo	Apomítico
“AR”	Ecótipo “André da Rocha”
“BAG”	Ecótipo “Bagual”
DIAM	Diâmetro
EEA	Estação Experimental Agronômica
MM	Material Morto
MSC	Massa Seca de Colmo
MSF	Massa Seca de Folhas
MSI	Massa Seca de Inflorescências
MST	Massa Seca Total
NINFLO	Número de Inflorescências
“Pen”	Cultivar Comercial “Pensacola”
PERF	Número de Perfilhos
Sex	Sexual
TFG	Tolerância ao Frio e Geada
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
VPP	Vigor Pré-Primavera

1. CAPÍTULO I

Introdução e Revisão Bibliográfica

1.1 INTRODUÇÃO

A produção pecuária da região sul do Brasil é baseada predominantemente no campo nativo como fonte alimentar dos animais, principalmente bovinos e ovinos. Com o avanço das áreas de lavoura, este ecossistema tem sofrido diminuição da área e conseqüente degradação das pastagens. Os Campos Sulinos são ecossistemas naturais com alta diversidade de espécies vegetais e animais, que compreende os campos dos biomas brasileiros Pampa e Mata Atlântica. Se estendem sobre regiões do Uruguai e Argentina e têm sido a principal fonte forrageira para a pecuária. A sua conservação, porém, tem sido ameaçada pela conversão em culturas anuais e silvicultura e pela degradação associada à invasão de espécies exóticas e uso inadequado. Segundo IBGE (2004), o Pampa corresponde a metade sul do estado do Rio Grande do Sul e o Bioma Mata Atlântica, inclui áreas de campos no Planalto Sul-Brasileiro, formando mosaicos com as florestas na metade norte do Rio Grande do Sul (RS) e nos estados de Santa Catarina (SC) e Paraná (PR) (Overbeck *et al.*, 2007). O Bioma Pampa ocupa uma superfície correspondente a pouco mais de 2% do território nacional e 63% do território do Rio Grande do Sul (IBGE, 2004), estendendo-se por boa parte do estado do Rio Grande do Sul, Argentina e Uruguai. Foram encontradas, em uma área amostral, a ocorrência de 261 táxons vegetais herbáceos e subarbustivos, correspondendo a 170 gêneros pertencentes a 54 famílias. A família mais representativa foi Poaceae (com 29 gêneros e 67 espécies), seguida de Asteraceae (32 gêneros/49 espécies), Fabaceae (13/20), Cyperaceae (7/10), Orchidaceae (6/8), Iridaceae (5/8), Rubiaceae (5/8), Verbenaceae (4/5), Malvaceae (4/4), Cactaceae (4/4), Euphorbiaceae (4/4), Apiaceae (3/8), Melastomataceae (3/3) e Solanaceae (3/5) (Marchi *et al.*, 2018).

Extensas áreas de campo estão em degradação, tanto por conta do sobrepastejo, ou seja, manejados com alta carga animal, e também pela invasão de espécies exóticas de baixo valor forrageiro e difícil controle. Outras áreas também foram eliminadas, dando lugar a lavouras. Estes problemas têm forçado pesquisadores a encontrar formas de driblar estes acontecimentos. Uma das maneiras é o desenvolvimento de novas cultivares de espécies forrageiras que sejam adaptadas a essa região e que tenham boa produtividade, fornecendo assim alimentação de qualidade para os animais e garantindo a produção de carne a pasto. Lobato *et al.* (2014) compilaram diversos trabalhos que demonstram a qualidade da carne produzida a base de pasto, comparando com a carne de animais confinados, demonstrando melhores parâmetros no perfil lipídico, com menor proporção de ácidos graxos saturados e maior concentração de ácido graxo ômega 3 na relação ômega 6: ômega 3. Sendo, desta maneira, produzido um alimento mais saudável e possuindo o apelo de “carne verde”, o que é muito favorável na imagem para os consumidores. Os autores também reportaram estudos que avaliaram parâmetros sensoriais como odor e sabor superiores e melhor coloração da carne.

O campo nativo do Rio Grande do Sul possui grande diversidade de vegetação e de animais, além de desempenhar serviços ecossistêmicos importantes. Porém, o Bioma Pampa nunca foi tratado como área prioritária de conservação, assim como o Cerrado, por serem áreas não-florestais, diferentemente dos outros biomas brasileiros. Por essa razão, Overbeck *et al.* (2007) se referem aos Campos Sulinos como “um bioma negligenciado”. Com a finalidade de estudar e resgatar a biodiversidade destes campos e dessa forma maximizar sua utilização, trazendo também benefícios para os produtores, torna-se urgente e necessário que a variabilidade genética naturalmente existente seja disponibilizada para melhoramento em coleções de germoplasma e assim potencializar o desenvolvimento de novas cultivares de espécies forrageiras, que possam ser inseridas na matriz produtiva do Estado. É preciso que as cultivares desenvolvidas tenham a capacidade de regenerar solos e áreas degradadas com estruturas radiculares e rizomatosas capazes de reduzir os riscos de erosão em ambientes ameaçados.

A espécie de gramínea forrageira nativa mais frequente nos Campos Sulinos do Brasil é *Paspalum notatum*, conhecida popularmente como “grama-forquilha”, tem estrutura rizomatosa, de ciclo perene e constitui-se em uma excelente fonte alimentar para ruminantes em rebanhos criados a pasto. Porém, não há disponibilidade de sementes de cultivares melhoradas para comercialização, o que limita a exploração em programas de melhoramento. Além disso, o germoplasma nativo de *P. notatum* tem modo de reprodução apomítico e nível tetraploide de ploidia ($2n=4X=40$). Entretanto, a cultivar comercial “Pensacola” da espécie é uma variedade diploide e sexual ($2n=2X=20$) (Quarin, 1992). A poliploidização dessas plantas sexuais diploides viabilizou cruzamentos intraespecíficos entre genótipos apomíticos e sexuais, o que gerou uma progênie híbrida com potencial de ampliar a variabilidade genética da espécie. O programa de melhoramento dessa espécie inclui uma série de avaliações reprodutivas, da produção de forragem e da tolerância ao frio nas condições de campo. Assim, a seleção de genótipos híbridos com características agrônômicas superiores e estáveis reprodutivamente promoverá a diversificação das pastagens e o aumento da produtividade.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial produtivo de uma progênie híbrida intraespecífica de *P. notatum*, além de verificar o modo de reprodução desses genótipos, uma vez que os híbridos segregam para modo de reprodução. Análises de comportamento meiótico nos genótipos de reprodução apomítica, análises de viabilidade polínica em toda a progênie híbrida e novos ciclos de cruzamentos foram realizados, tanto de materiais com distância genética como os materiais da mesma família, com vistas a estudar a endogamia e para formação de grupos heteróticos. Os híbridos apomíticos superiores para as características agrônômicas passarão por etapas adicionais no programa de melhoramento e poderão ser candidatos a novas cultivares para registro e proteção pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1. O campo nativo do Rio Grande do Sul

Os campos são as formações vegetais de maior extensão territorial do planeta. As gramíneas presentes nestas formações vegetam nas mais diferentes condições edafoclimáticas, desde às regiões quentes e áridas, como ao sul do deserto do Saara e locais de frio extremo, como a tundra, típica do círculo ártico. Além disso, formam as pradarias extensas no meio oeste norte-americano e os pampas na América do Sul (Valle *et al.*, 2013). Segundo levantamento do IBGE (2004), no extremo oeste do Rio Grande do Sul ocorrem pequenas vegetações campestres, do tipo savana estépica; e do tipo estepe nos campos das regiões do Planalto e da Campanha. Entretanto, no Brasil, as formações campestres vegetam em apenas 2,07% da área total do território nacional, com uma área de 176.496 km², segundo o mesmo levantamento.

O Bioma Pampa é constituído de um grande número de espécies vegetais, sendo fonte de alimento para animais selvagens e domesticados. É também importante na conservação dos recursos naturais como a água e o solo. Representa uma fonte de germoplasma forrageiro que é muito pouco estudado quanto às suas potencialidades, tanto como constituinte das comunidades campestres naturais, quanto a suas diferentes aptidões para serem utilizadas como pastagens cultivadas ou mesmo para outros usos (Nabinger; Moraes; Maraschin, 2000). A diversidade do Bioma Pampa, além de ser um patrimônio genético fantástico e raramente encontrado em outros ecossistemas pastoris no mundo, também promove uma dieta diversificada ao animal, conferindo particularidades ao produto final obtido. Espécies forrageiras nativas do Rio Grande do Sul desempenham importante papel na atividade pecuária, representando em média, 76% da área pastoril utilizada (Nabinger, 2006).

A produção pecuária no Sul do Brasil é desenvolvida de forma extensiva, onde as pastagens nativas, principalmente concentradas no Bioma Pampa, restrito ao estado do Rio Grande do Sul, representam o principal substrato forrageiro. Porém, a falta de conhecimento aplicado ao campo e o consequente manejo inadequado, tem feito com que as áreas destinadas para produção, de carne ou leite, venham sendo degradadas em ritmo acelerado. A falta de reposição dos nutrientes do solo, retirados na forma de produto animal, dificilmente são repostos de forma a equilibrar novamente o sistema solo-planta-animal. Essa extração contínua faz com que as áreas se tornem menos produtivas ao longo do tempo, formando uma visão equivocada de que o campo é uma área de baixa produtividade, quando na verdade as pastagens são recursos importantes para a produção animal, pois são convertidas em proteína de alto valor biológico para utilização na alimentação humana, utilizadas para cultivo inclusive em solos pobres e sem vocação para lavouras ou outros usos.

A degradação dos ecossistemas pastoris é de longe o problema mais importante da pecuária no Brasil. Espécies forrageiras, tanto exóticas quanto nativas, ocupam 171 milhões de hectares no Brasil. No entanto, falta

diversidade no mercado de sementes forrageiras, já que 45% da área pastoril brasileira e 60% da produção de sementes é constituída somente da gramínea exótica *Urochloa* (ex-*Brachiaria*) *brizantha* cv. Marandu. A falta de biodiversidade expõe o ecossistema, ao exercer grandes pressões sobre pragas e/ou doenças que podem eliminar alguma variedade suscetível (Araújo; Deminicis; Campos, 2008). A condição ambiental a que nosso país está sujeito faz com que tenhamos o maior rebanho de gado bovino do mundo, com 212 milhões de cabeças, estando no topo das exportações mundiais de carne bovina (Poll *et al.*, 2013). O Brasil exporta 20% dessa carne produzida anualmente, entretanto um fator que pode trazer melhoria às receitas é a agregação de valor, já que o país fica na terceira posição em receita, atrás de Estados Unidos e Austrália (Santos *et al.*, 2018).

Em se tratando de pastagens cultivadas, essas são formadas por poucas cultivares; nos trópicos predominam gramíneas apomíticas que formam grandes monocultivos, o que torna tais áreas vulneráveis às condições ambientais. Essa vulnerabilidade só será contornada quando da liberação e posterior adoção de novas cultivares por parte dos produtores. Desta forma, havendo promoção da diversidade nas pastagens, obtendo assim uma exploração mais racional da pecuária com ganhos para o meio ambiente. As diversas categorias animais possuem aptidões diferenciadas, sendo que o mesmo ocorre com as diferentes espécies forrageiras em que cada espécie tem sua aptidão intrínseca (Valle *et al.*, 2013).

A produção agropecuária com a utilização de gramíneas no Brasil vem sendo feita através de coletas e intercâmbios de germoplasma exótico, em sua maioria do continente africano, de onde foram introduzidas espécies dos gêneros *Panicum*, *Andropogon*, *Urochloa* em detrimento dos gêneros e espécies nativas, como as que pertencem ao gênero *Paspalum* (Batista; Godoy, 2000). Gramíneas forrageiras de estação quente têm se tornado extremamente importantes economicamente considerando seu valor para a produção de bovinos de corte nos trópicos e subtropicais. Esta ocorrência é especialmente perceptível no Brasil, que tem a maior produção de carne do mundo e exportação, onde a maioria da produção bovina é centrada no cultivo de espécies forrageiras apomíticas (Jank *et al.*, 2014). As espécies nativas têm potencial de obterem maior produtividade e possuem a vantagem de serem adaptadas ao ambiente no qual estão inseridas. Dentro deste contexto, o melhoramento genético destas espécies é de fundamental interesse e importância. Diante desta problemática, universidades e institutos de pesquisa devem unir esforços para geração de novos materiais como alternativas para a produção forrageira, cooperando para a inserção de cultivares melhoradas através de cruzamentos e seleção, em coleções de germoplasma.

1.2.2. O gênero *Paspalum*

As espécies do gênero *Paspalum* têm lugar de destaque na formação das pastagens, com excelente valor forrageiro, sendo identificadas em praticamente todas as formações campestres no Brasil. Muitas delas estão sendo melhoradas geneticamente nos Estados Unidos, Brasil e Argentina, com o objetivo de gerar novas cultivares forrageiras para regiões subtropicais

(Brugnoli *et al.*, 2013). Nas pastagens nativas do Rio Grande do Sul, este gênero é o que reúne a maior porcentagem de espécies com qualidade forrageira (Valls, 1987). Barreto (1974) relatou a importância deste gênero através de um levantamento florístico no Estado do Rio Grande do Sul. O autor apontou aproximadamente 300 espécies, sendo que 56 destas são nativas. Em muitas regiões brasileiras este gênero é dominante das formações campestres; praticamente não se consegue identificar uma formação vegetal brasileira sem que haja uma espécie de *Paspalum* fazendo parte de sua composição. As espécies desse gênero apresentam ampla distribuição em ambientes diversos, predominam em solos bem drenados e suportam baixa fertilidade natural (Kaminski *et al.*, 1998). Strapasson, Vencovsky; Batista (2000) relataram que a importância do *Paspalum* é evidenciada por sua adaptabilidade a diferentes ecossistemas, representando menor risco de causar desequilíbrio biológico devido a sua diversidade genética.

Recentemente, em um levantamento florístico das pastagens sulbrasileiras, Andrade *et al.* (2019) relataram que várias espécies do gênero *Paspalum* ocorrem naturalmente no bioma Pampa, considerando *P. notatum*, pertencente ao grupo taxonômico Notata (Chase, 1929), como a espécie mais abundante presente em todas as regiões desse bioma. Recentes pesquisas populacionais têm indicado que as diferentes espécies do gênero compõem uma rica diversidade entre as populações, como resultado da colonização de diferentes áreas por novos genótipos apomíticos (Brugnoli *et al.*, 2014). As diferentes espécies do gênero têm se destacado em vários trabalhos, demonstrando tolerância ao frio, alta produção e qualidade de forragem em comparação com outras gramíneas tropicais e subtropicais.

Três genótipos tetraploides sexuais, nominados 'Q4205', 'Q4188' e 'C44X', obtidos através de colaboração com o Instituto de Botânica del Nordeste (IBONE), localizado na cidade de Corrientes, Argentina (Quarin *et al.*, 2003) foram parentais maternos em esquemas de cruzamentos intraespecíficos efetuados com o germoplasma tetraploide apomítico nativo do Rio Grande do Sul, ecótipos "Bagual" e "André da Rocha". A progênie híbrida obtida foi avaliada quanto ao modo de reprodução (Weiler *et al.*, 2017) e potencial agrônomo (Weiler *et al.*, 2018), confirmando o vigor híbrido de materiais selecionados, com o genótipo híbrido intraespecífico nominado 'D3' (apomítico), produzindo cerca de 42% a mais do que o genitor mais produtivo, ecótipo "Bagual" da espécie, e cerca de sete vezes mais do que a cultivar "Pensacola".

Em trabalho realizado por Pereira *et al.* (2015), foi demonstrado o vigor híbrido de materiais oriundos de cruzamentos interespecíficos entre *P. plicatulum* x *P. guenoarum*. Os autores verificaram percentual médio de 16,5% e 16,6% de proteína bruta (PB) para *P. leptum* (ex-*nicorae*) e para a cultivar "Pensacola", respectivamente. Em pesquisa semelhante com acessos nativos nominados "Baio" e "Azulão" de *P. guenoarum*, conjuntamente com a cultivar "Pensacola", Steiner *et al.* (2017) obtiveram resultados de teores de proteína bruta de 14,3; 14,7 e 15,5% respectivamente. Motta *et al.* (2017) demonstraram a superioridade forrageira de híbridos de *P. plicatulum* x *P. guenoarum* submetidos a diferentes taxas de adubação nitrogenada.

Maraschin (2000) fez uma crítica a um dos entraves da utilização de espécies nativas, tendo como pano de fundo a “cultura brasileira”, que crê que tudo que é importado tem a tendência de ser melhor, entretanto, estudos conduzidos com espécies nativas tem demonstrado seu alto valor como espécies forrageiras para compor a base alimentar do gado no Rio Grande do Sul. A ocupação de habitats naturais por espécies exóticas consideradas invasoras e a substituição das pastagens nativas por espécies cultivadas e por áreas de lavoura têm demonstrado ser um problema mundial. Estas invasões têm graves consequências aos sistemas ecológicos, econômicos e sociais. Os campos nativos têm sido substituídos principalmente por *Eragrostis plana* Nees, conhecido como ‘capimannoni’, que foi introduzido da África e Ásia e se disseminou além do estado do Rio Grande do Sul, por causa da sua promessa de valor forrageiro. Entretanto, esta gramínea se tornou uma invasora de baixo valor forrageiro e de difícil eliminação, ameaçando as populações naturais de *Paspalum* no sul do Brasil. Esta gramínea apresenta, além disto, efeitos alelopáticos que inibem o desenvolvimento de espécies nativas no solo onde estão inseridas (Medeiros *et al.*, 2012).

1.2.3. A espécie *Paspalum notatum*

Uma das espécies mais comuns no sul do Brasil é *Paspalum notatum*, que tem seu centro de origem no sul do Brasil, norte da Argentina e Paraguai (Parodi, 1937). É popularmente conhecida como ‘grama-forquilha’ e sua importância como forrageira subtropical é amplamente aceita, apresentando boa qualidade de forragem, alta resistência ao pastejo e ao pisoteio dos animais (Pozzobon; Valls, 1997). Devido a essas características, a espécie foi destacada entre as chamadas “Plantas para o futuro”, ou seja, plantas nativas com potencial de inserção na matriz agrícola para fins variados (Valls *et al.*, 2009). Os diversos ecótipos nativos já estudados apresentam adaptações às mais variadas condições de solo e clima e apresentam características morfológicas diferentes quanto ao tamanho e espessura do rizoma, tamanho das flores e das inflorescências, rendimento e qualidade (Nabinger; Dall’Agnol, 2008), embora o conhecimento sobre a espécie ainda necessite ser explorado. Valle *et al.* (2013) nos informam que forrageiras bem sucedidas são aquelas que se adaptam, ao longo da evolução, às condições edafoclimáticas necessárias a sua sobrevivência e dispersão e ao mesmo tempo desenvolvem mecanismos de resiliência ao superpastejo, doenças e insetos.

Segundo Gates; Quarin; Pedreira (2004), dentre as características que fazem a espécie um importante constituinte dos ecossistemas pastoris, estão a boa tolerância a solos de baixa fertilidade, persistência e a tolerância a doenças. Outros autores afirmam ainda que *P. notatum* é utilizado como forrageira para produção animal, que pode ser consorciada com leguminosas, respondendo bem à adubação nitrogenada e ao fotoperíodo (Barreto, 1974; Rosengurt, 1979). As características inerentes da espécie e sua importância como constituinte dos campos sulinos tem impulsionado o desenvolvimento de muitos trabalhos de pesquisa, em Instituições nacionais e internacionais.

Trabalhos variados que englobam caracterização de germoplasma, biologia reprodutiva, citogenética (análises meióticas e viabilidade polínica), viabilização de cruzamentos intraespecíficos para avaliações agronômicas a campo, entre outros, são conduzidos com o objetivo de lançar cultivares. Para o Estado do Rio Grande do Sul, o resultado de tais pesquisas e o posterior lançamento de cultivares será uma nova opção forrageira para os produtores e representará um avanço no programa de melhoramento de plantas forrageiras nativas.

1.2.4. Apomixia e nível de ploidia de *P. notatum*

A espécie *P. notatum* forma um complexo agâmico, pois exhibe diferentes níveis de ploidia e um sistema reprodutivo intrincado associados às suas características reprodutivas (Burton, 1948). Genótipos sexuais, de polinização cruzada, diploides ($2n=2X=20$), foram encontrados no nordeste da Argentina (Burton, 1955; 1967), embora o citótipo mais comum seja tetraploide ($2n=4X=40$), de modo de reprodução apomítico, com distribuição mais ampla, na América do Sul e Central.

A apomixia é um modo de reprodução através de sementes que produz indivíduos idênticos geneticamente à planta-mãe. Este modo de reprodução dá origem a uma progênie originada a partir de uma célula ovo não fertilizada e não-reduzida (Ortiz *et al.*, 2013); é controlado geneticamente, ocasionando o desenvolvimento embrionário a partir de mitoses das células-ovo, originando sementes férteis sem a união dos gametas como ocorre na reprodução sexual (Carneiro; Dusi, 2002). Atualmente o termo (do grego *apo* - longe e *mixis* - mistura) é empregado em seu senso restrito, como sinônimo de agamospermia (formação de sementes sem fecundação) (Dall'Agnol; Schifino-Wittmann, 2005). A apomixia pode ser facultativa, quando produz descendentes tanto de origem sexual quanto apomítica ou obrigatória, quando só produz descendentes através da apomixia, com ausência de reprodução sexual. O estudo pioneiro do controle genético da apomixia foi executado por Burton & Forbes (1960).

O segmento gênico que controla a apomixia em *P. notatum* possui uma forte supressão da recombinação genética por ser originado de um segmento translocado das regiões centromérica, telomérica ou heterocromática durante o processo de especiação do gênero *Paspalum* (Martinez *et al.*, 2001). Este modo de reprodução foi observado em 224 gêneros, de aproximadamente 14.000 gêneros botânicos, dos quais 41 pertencem à família Poaceae (Carman *et al.*, 2011). Nesta, aproximadamente 125 espécies produzem sementes através de apomixia, em um processo de reprodução assexual (Bashaw; Hanna, 1990). Acreditava-se que as plantas apomíticas eram originárias de eventos de poliploidização em um dado momento e que estas plantas se estabeleciam gerando populações apomíticas. Entretanto, há fortes evidências de que os poliploides tiveram diversas origens, com poliploidização recorrente envolvendo vários ascendentes e que, na maioria das espécies, surgiram da combinação de gametas não-reduzidos (Soltis; Soltis, 1999).

Martínez *et al.* (2001) verificaram que os resultados de análise de progênies de *P. notatum* demonstravam uma herança tetrassômica modificada

com apenas um gene dominante com efeito pleiotrópico e penetrância incompleta. Segundo os autores, o efeito letal desse alelo dominante acaba por distorcer o padrão de segregação, aumentando a proporção de indivíduos sexuais em relação aos apomíticos em uma progênie segregante. Os citótipos tetraploides de *P. notatum* se reproduzem por apomixia apospórica (Gates; Quarin; Pedreira, 2004), onde o embrião se desenvolve a partir de células somáticas diferenciadas do óvulo, os "apósoros iniciais". Nestas células ocorrem mitoses, formando um embrião que não foi reduzido pela meiose e as sementes produzidas são clones da planta-mãe.

A produção de sementes clonais não é um mecanismo comum e apenas uma pequena porcentagem de todas as angiospermas reproduzem-se pela apomixia gametofítica, tanto apospórica quanto diplospórica (Carman, 1997). Esta característica oferece uma oportunidade única de uso e desenvolvimento de genótipos superiores. As sementes de apomíticos obrigatórios superiores podem ser incrementadas por polinização aberta conduzida através de um grande número de gerações, sem perda de vigor ou mudança em seu genótipo (Hanna; Bashaw, 1987).

Espécies apomíticas são na sua quase totalidade perenes e muitas vezes possuem propagação vegetativa através de estolões ou rizomas. Assim, no campo, através da combinação de apomixia e divisão vegetativa, plantas apomíticas podem formar grandes populações clonais e estas podem persistir por longos períodos de tempo. A apomixia possui uma grande vantagem que é a fixação de genótipos superiores durante o processo de melhoramento, originando clones da planta-mãe (Koltunow, 1993). Apesar de ser o modo de reprodução ocorrente nos principais gêneros de gramíneas forrageiras, este pode se tornar um impeditivo para a realização de cruzamentos.

Em uma pesquisa de Nogler (1982), foi considerado que a existência de um fator dominante para aposporia não poderia ser transmitido através de gametas monoploides, explicando o motivo da ausência de plantas naturais apomíticas diploides que, até os dias atuais, não foram encontradas. Os genótipos sexuais diploides dificultam o melhoramento dessa espécie. Para contornar o problema, é induzida a duplicação cromossômica artificial de indivíduos sexuais, que visa igualar o nível de ploidia dos materiais e desta forma viabilizar os cruzamentos. Se nenhum correlato sexual da espécie em que se deseja fazer o melhoramento estiver disponível ou tiver sido detectado, a opção é a coleta de material em vários locais para que seja formado um banco de germoplasma para posteriores avaliações agronômicas e seleção dos melhores genótipos.

A cultivar "Pensacola" de *P. notatum* é diploide de reprodução sexual e é uma das poucas alternativas de espécie cultivada de verão em que há sementes disponíveis para compra. Entretanto, é importante ressaltar que praticamente todos os estudos realizados comparando os ecótipos nativos de *P. notatum* do Rio Grande do Sul com a cv. "Pensacola" demonstraram que os acessos nativos apresentam produções de matéria seca superiores a desta cultivar, apontando para a necessidade de explorar o potencial produtivo destes materiais nativos tetraploides (Fachinetto, 2010; Barbosa, 2014; Machado *et al.* 2017; Weiler *et al.*, 2018).

1.2.5. Análises reprodutivas como ferramenta para o melhoramento

De acordo com Sybenga (1998), a citogenética apresenta dois papéis fundamentais para os programas de melhoramento. Primeiramente, serve para fornecer informações básicas sobre modo de reprodução, fertilidade e nível de ploidia e após, tem possibilidade de viabilizar métodos para que seja feita manipulação genética. O mesmo autor resumiu a tarefa do citogeneticista dentro de um programa de melhoramento de plantas como sendo o de gerar transferência de genes e observar este processo e seus acontecimentos sucessivos tais como: incompatibilidade de genomas, cruzamentos estéreis e proporção na segregação não esperada para o material.

A partir da análise do modo de reprodução, do comportamento meiótico e viabilidade polínica e do nível de ploidia, os indivíduos serão direcionados para os esquemas de cruzamentos ou descartados.

Problemas de irregularidades na meiose masculina, durante a segregação cromossômica, tais como formação de tetra, tri e univalentes, diferentemente da formação esperada em bivalentes, procede a formação de gametas desbalanceados cromossomicamente, refletindo em uma alta porcentagem de grãos de pólen inviáveis (Stebbins, 1971).

Vários estudos citogenéticos com gramíneas forrageiras apontaram materiais férteis e estáveis reprodutivamente, tornando-os promissores dentro dos programas. Dahmer *et al.* (2008) e Moraes-Fernandes, Barreto e Salzano (1973) observaram a predominância de associações bivalentes em 36 e cinco acessos de *P. notatum* avaliados, respectivamente. Em 24 acessos de *Paspalum* sp (Pagliarini *et al.*, 2001), 53 acessos de *P. leptum* (Reis *et al.*, 2008), três plantas poliploidizadas de *Urochloa decumbens* (Simioni; Valle, 2011), seis acessos de *Urochloa brizantha* (Araújo *et al.*, 2005), um acesso de *Urochloa ruziziensis* (Risso-Pascotto; Pagliarini; Valle, 2005) e um acesso de *Paspalum durifolium* (Quarin, 1994), a meiose foi considerada regular com uma ampla variabilidade das diversas associações cromossômicas, uni, bi, tri e tetravalentes, mas que em nenhum dos casos comprometeu a viabilidade polínica dos materiais analisados.

Em análises citogenéticas de acessos apomíticos de ocorrência natural e tetraploides induzidos de *P. notatum*, Podio *et al.* (2012) observaram configurações normais e anormais na anáfase I, tanto em genótipos sexuais quanto em genótipos apomíticos. Entretanto, os genótipos apomíticos apresentaram significativamente mais anormalidades na anáfase I do que os sexuais, assim como também os indivíduos apomíticos tiveram mais grãos de pólen inviáveis do que os tetraploides sexuais induzidos.

Recentemente, Krycki; Simioni; Dall'Agnol (2016) avaliaram o modo de reprodução, o comportamento meiótico e a viabilidade polínica de três plantas poliploidizadas por Weiler *et al.* (2015) de *P. notatum*, nominadas 'WKS92', 'WKS3' e 'WKS63', que foram utilizadas como genitores no trabalho aqui apresentado. Foi dada ênfase às observações das associações em diacinese na meiose para verificar o pareamento cromossômico, relacionando estes dados à fertilidade dos grãos de pólen destes indivíduos. Os autores verificaram satisfatória regularidade meiótica dessas plantas, viabilizando-as

como genitores dentro do programa de melhoramento. O pareamento cromossômico foi típico de poliploides, com associações cromossômicas em uni, bi, tri e tetravalentes. As plantas 'WKS92' e 'WKS3' do experimento apresentaram menos anormalidades meióticas quando comparadas com a planta 'WKS63', com a maioria dos cromossomos associando-se em bivalentes e esporádicas associações tetravalentes, evidenciando uma tendência à regularização e controle genético do pareamento nestes poliploides recém-formados.

Em contrapartida, outros autores registraram acessos em que a maioria das associações ocorreram em uni ou multivalentes: *Urochloa brizantha*, *U. decumbens* e *U. ruziziensis* (Valle; Savidan, 1996), *U. decumbens* cv. Basilisk (Junqueira-Filho *et al.*, 2003) e *Panicum maximum* (Caetano *et al.*, 2006; Pessim *et al.*, 2010), concordando com Ramsey & Schemske (2002) que afirmaram que, em genótipos com herança polissômica, há uma tendência à formação de multivalentes. Estas formações, incluindo as pontes durante a segregação dos cromossomos, pode ser indício de uma expressão da homologia persistente entre cromossomos não-homólogos (Stebins, 1971). *P. notatum*, possuindo também reprodução por propagação vegetativa, pode manter os tetravalentes residuais do processo de poliploidização, sem necessidade de 'diploidização' cromossômica, o que é comum ocorrer em diploides sexuais. Outras esporádicas mutações e aberrações nos cromossomos podem ser mantidas nos acessos e não causar diminuição da fertilidade. Por ser pseudogâmica, existe a necessidade de alguma regularidade meiótica que assegure desta forma a fertilidade de pólen necessária apenas para fecundar o endosperma (Dahmer *et al.*, 2008).

Em algumas espécies de *Paspalum* apomíticas, como é o caso do *P. notatum* e em *Urochloa sp.*, a formação das sementes só ocorre com a fecundação dos núcleos polares do saco embrionário por um dos núcleos gaméticos do pólen, o que configura a apomixia pseudogâmica (Pagliarini; Pozzobon, 2004).

Em estudos com *P. notatum*, foi encontrada viabilidade polínica variando de 81 a 91,47% (ecótipo "Bagual") e de 86 a 98% (ecótipo "André da Rocha") (Dahmer *et al.*, 2008). Já Moraes-Fernandes; Barreto; Salzano (1973) atribuíram fertilidade polínica na mesma espécie entre 0 e 84,30%. Na espécie *P. lepton*, Reis *et al.* (2008) depararam-se com uma alta viabilidade de pólen, na faixa de 88,99 a 95,06%, embora estes acessos tenham apresentado irregularidades na meiose. Analisar a viabilidade polínica fornece informações sobre as condições reprodutivas da progênie e nos dá chance de monitorar a fertilidade dos genótipos parentais paternos ao longo das gerações.

Após o exposto, analisando os dados de experimentos obtidos por diversos autores aqui citados, percebe-se que existe a necessidade das avaliações de comportamento meiótico, viabilidade polínica, modo de reprodução dos poliploides artificiais e de suas respectivas progênies. Estas análises visam validar os híbridos gerados como genitores nos futuros cruzamentos, assim como direcioná-los dentro do programa de melhoramento para ampliação da base genética da espécie.

1.2.6. Avaliações agronômicas

O melhoramento de plantas forrageiras, na maioria dos casos, ocorre fora de seus centros de origem. Desta maneira, melhorar estas espécies em seus locais nativos é uma forma de encontrar híbridos mais adaptados já que os genótipos que serão por sua vez mais produtivos, terão melhor qualidade e contribuirão para a recuperação de áreas degradadas. Assim teremos a consequente sustentabilidade do sistema pastoril da região sul do Brasil. Por ser um recurso tão importante, é justificado que existam cada vez mais estudos para que estas espécies sejam mais bem conhecidas e preservadas, mantendo a biodiversidade e os vários serviços ecossistêmicos prestados (Carvalho *et al.*, 2016). Com o acréscimo do potencial produtivo nas espécies cultivadas, diminui-se a necessidade de utilizar novas áreas para a agricultura e pecuária, conservando nossos recursos naturais ao mesmo tempo em que aumentamos a produção em vista ao crescente aumento populacional, que se estima que chegará em 9,8 bilhões de pessoas no ano de 2050 e 11,2 bilhões no ano de 2100, segundo relatório da ONU (2017).

A maneira de avaliar preliminarmente esses materiais é a avaliação conduzida em plantas individuais, devido ao número alto de híbridos e a quantidade de sementes disponíveis, que nesse primeiro momento é de uma semente gerada por genótipo. Nesse tipo de avaliação, se pode mensurar variáveis que não são possíveis em outros delineamentos experimentais. Neste quesito, podemos citar o diâmetro que cada genótipo atinge ao longo do tempo, visto que alguns materiais colonizam melhor a área por investirem mais na parte rizomatosa e por isso podem se prestar para outras finalidades que não a forrageira. Burton (1955) informa que estes indivíduos podem ser conduzidos para gramados de finalidade paisagística ou esportiva como também podem servir como colonizadores em áreas que se deseja recuperar.

A avaliação individual expressa as características intrínsecas dos indivíduos, sem levar em consideração a competição destes em um sistema com outros indivíduos e outras espécies. Sendo assim, avaliar plantas individuais é a avaliação pioneira que deve ser feita em novos híbridos gerados em programas de melhoramento, não dispensando futuras avaliações em linhas, parcelas e blocos.

1.2.7. Melhoramento genético de *Paspalum notatum*

“Fazer ou não fazer melhoramento?” (“*To breed or not to breed?*”) foi uma questão levantada por Cameron (1983) e que continua persistente até hoje. O argumento gira em torno de gerar cultivares pelo melhoramento genético ou primeiramente realizar coletas nos centros de origem e avaliar selecionando os genótipos a partir da variabilidade encontrada naturalmente. Harlan (1983) reforçou esse paradoxo quando, em uma viagem de coletas, deparou-se com genótipos muito superiores aos que ele demorou dez anos para desenvolver através de melhoramento genético. Desta forma, este autor reforçou a ideia de primeiramente obter uma coleção de germoplasma representativa da variabilidade natural e somente após esta etapa seguir para o melhoramento genético.

Os programas de melhoramento de forrageiras tropicais são recentes e contam com poucos especialistas, não apenas no Brasil como em toda região tropical do mundo (Valle *et al.*, 2013). Por ser uma atividade relativamente recente, os autores supracitados apontam alguns pré-requisitos aos programas de melhoramento. Primeiramente, deve-se reunir, em uma coleção de germoplasma, toda a variabilidade genética disponível da espécie, através de coletas nos centros de origens e intercâmbio com bancos de germoplasma estabelecidos. Levantamentos de espécies estreitamente relacionadas também são importantes, principalmente em alguns casos em que é necessário realizar cruzamentos interespecíficos para acréscimo de características desejadas dentro da espécie alvo. Após, reunida a variabilidade em coleções a serem trabalhadas, a diversidade deve ser caracterizada através de aspectos básicos da biologia floral, número e comportamento cromossômico, modo de reprodução, valor nutritivo, forrageiro e de produtividade.

Finalmente, deve-se estabelecer os objetivos do melhoramento da espécie em questão, podendo ser de aumento da produtividade, melhoria da qualidade nutricional, persistência e adaptação ao ambiente onde será cultivada, entre outras. Existem critérios importantes a serem considerados, como produção de matéria seca total e de folhas, produção anual, época de crescimento maior e menor; consumo, palatabilidade e digestibilidade dos animais, ausência de fatores antinutricionais; resistência a pragas e doenças; persistência e facilidade de propagação e estabelecimento. Nas situações onde é indicado o uso de hibridações, o processo passa para a escolha de quem serão os genitores. Estes devem ter seu modo de reprodução e citogenética bem conhecidas. Estes genitores devem possuir bom desempenho para as características de interesse do melhoramento. Devem também ser conhecidos a divergência e a complementariedade genéticas. *A priori*, deve-se conhecer as características importantes a serem melhoradas, escolha da metodologia adequada para avaliação, identificação de fontes de variabilidade genética e recombinação dos genitores, seleção de híbridos superiores, comparando com um material existente como padrão e avaliação do comportamento da planta e do animal.

O Brasil é o principal país que pesquisa pastagens tropicais no mundo e por isso tem uma responsabilidade grande, necessitando de investimentos para formação de pesquisadores nesta área, que necessita de equipes transdisciplinares para alcançar os objetivos do melhoramento. Ainda são avaliadas algumas poucas espécies, mas se espera que com o tempo sejam pesquisados um maior número de espécies adaptadas às mais variadas condições ambientais, já que o melhoramento de forrageiras em âmbito mundial é recente. Dessa forma será possível produzir mais em menor área, ajudando a preservar o meio ambiente e reduzir o desmatamento para implantação de novas áreas de pastagens.

1.2.8. Histórico do programa de melhoramento genético de *P. notatum*.

Este projeto de pesquisa vem sendo conduzido desde janeiro de 2009. Na primeira fase, houve indução de poliploidia em plantas e sementes de *P. notatum* cultivar “Pensacola”, que foram tratadas com colchicina para que houvesse a duplicação artificial do número cromossômico. Após análises envolvendo contagem cromossômica em pontas de raiz e nível de ploidia em citômetro de fluxo, para verificação da efetividade da duplicação, três plantas confirmaram número cromossômico tetraploide, nominadas ‘WKS3’, ‘WKS63’ e ‘WKS92’ (Weiler *et al.*, 2015). Este número remonta a 0,85% do total de plantas analisadas efetivamente poliploidizadas, demonstrando a dificuldade de se obter plantas poliploides artificialmente, embora representem um grande avanço no programa de melhoramento. Para confirmação do modo de reprodução sexual das plantas geradas no experimento, foram efetuadas análises citoembriológicas. Dois indivíduos confirmaram modo de reprodução sexual (‘WKS63’ e ‘WKS92’), porém uma planta se tornou apomítica (‘WKS3’). A regularidade meiótica desses indivíduos recém-duplicados os validaram como genitores dentro do programa (Krycki; Simioni; Dall’Agnol, 2016).

Com esta fonte de sexualidade gerada, foi possibilitada a abertura de novas perspectivas e estratégias de hibridações na espécie, promovendo a ampliação da variabilidade genética, sendo possível então, selecionar genótipos superiores para características de interesse forrageiro. Quarín *et al.* (2001) obtiveram um genótipo apomítico e dois sexuais quando duplicaram artificialmente plantas de *P. notatum* com o uso de colchicina. Estes resultados levam a conclusão de que a apomixia existe em nível diploide, porém sem se expressar, o que durante o evento de duplicação artificial acaba por manifestar-se, evidenciando que sua expressão completa depende da ação de fatores ativados pelo nível de ploidia.

Em um trabalho paralelo, em colaboração com o IBONE (Instituto de Botânica del Nordeste), da Universidad del Nordeste Argentino, cidade de Corrientes, Argentina, foram obtidos três genótipos tetraploides sexuais (‘Q4188’, ‘Q4205’ e ‘C4-4X’) induzidos artificialmente (Quarín *et al.*, 2001; 2003), que foram cruzados com os ecótipos apomíticos tetraploides nativos, também para obtenção de híbridos intraespecíficos de *P. notatum*. A partir das sementes obtidas nestes cruzamentos, foi possível estabelecer em campo uma progênie híbrida composta de 198 plantas que foram avaliadas agronomicamente. Destas, destacaram-se 28 híbridos mais produtivos (produção de massa seca total e de folhas) e vigorosos (Weiler *et al.*, 2018), que tiveram seu modo de reprodução analisado (Weiler *et al.*, 2017). Barbosa (2014) estabeleceu as 28 plantas híbridas selecionadas em repetições em linhas e avaliou-as em duas regiões fisiográficas do Rio Grande do Sul: Depressão Central e Campanha, comprovando o potencial produtivo de alguns desses genótipos nas duas regiões em que foram avaliados; esses então foram utilizados como genitores nos cruzamentos aqui apresentados.

A obtenção de genótipos apomíticos e sexuais, aliados ao germoplasma nativo da espécie, tornou possível viabilizar esquemas de

cruzamentos, gerando uma progênie, através de hibridações feitas em condições controladas em casa de vegetação, ampliando ainda mais a base genética da espécie. O ecótipo nativo “Bagual”, por já ter demonstrado que, quando manejado adequadamente, apresentam produção de forragem próxima àquelas obtidas por cultivares de espécies tropicais já melhoradas (Fachinetto *et al.*, 2012; Steiner *et al.*, 2017), está sempre implicado nos esquemas de cruzamentos. O propósito desta etapa de avaliações é analisar as condições reprodutivas e o potencial produtivo dos híbridos intraespecíficos gerados supracitados. As avaliações agronômicas ocorreram em condições de campo, na Estação Experimental Agronômica (EEA-UFRGS), no município de Eldorado do Sul, através de colheitas e medições nas diferentes estações do ano, durante três anos.

1.3. HIPÓTESES E OBJETIVOS

1.3.1. Hipóteses

Híbridos intraespecíficos de *P. notatum* possuirão estabilidade reprodutiva, terão características agronômicas superiores aos seus genitores, possibilitando novos cruzamentos com utilização de genótipos de desempenho superior.

1.3.2. Objetivos

1.3.2.1. Objetivo Geral:

Avaliar a estabilidade reprodutiva e o potencial produtivo de híbridos intraespecíficos de uma progênie F1 de *P. notatum*.

1.3.2.2. Objetivos específicos:

- Analisar os híbridos da progênie F1 quanto ao seu modo de reprodução e viabilidade polínica;
- Analisar os híbridos com modo de reprodução apomítico da progênie F1 quanto ao comportamento meiótico;
- Realizar avaliações agronômicas e verificar os efeitos do frio e geada nas plantas híbridas;
- Realizar novos ciclos de cruzamentos utilizando as plantas selecionadas da progênie F1 para dar origem a novos híbridos.

2. CAPÍTULO II¹

Análises reprodutivas de híbridos intraespecíficos de *Paspalum notatum* Flüge

¹Artigo elaborado conforme as normas da CBAB (Crop Breeding and Applied Biotechnology).

Análises reprodutivas de híbridos intraespecíficos de *Paspalum notatum* Flügge.

Karine Cristina Krycki, Marília Tedesco, Vitória Rodrigues, Roberto Luis Weiler, Miguel Dall'Agnol, Carine Simioni

Resumo: *Paspalum notatum* é uma importante espécie forrageira nativa do sul do Brasil. Esta espécie é encontrada na maioria das formações campestres. O objetivo desse trabalho foi avaliar as condições reprodutivas (modo de reprodução, comportamento meiótico e viabilidade polínica) da progênie híbrida gerada através de cruzamentos artificiais envolvendo plantas sexuais duplicadas artificialmente, híbridos intraespecíficos selecionados dentro do programa de melhoramento da UFRGS e ecótipos apomíticos nativos da espécie. A progênie F1 obtida foi composta de 24 plantas, com alta viabilidade do pólen e segregação para modo de reprodução de 1,2:1 (sex:apo), evidenciando a predominância de híbridos sexuais, ou seja, houve uma segregação distorcida, como já relatado em outros experimentos. Os híbridos apomíticos apresentaram alta estabilidade meiótica. As plantas sexuais e apomíticas geradas foram validadas como genitores para futuros cruzamentos.

Palavras chave: modo de reprodução, comportamento meiótico, viabilidade polínica.

Reproductive analyses of intraspecific hybrids of *Paspalum notatum* Flügge.

Abstract: *Paspalum notatum* is an important forage native to southern Brazil. This species are found in most of the country formations. The objective of this work was to evaluate the reproductive conditions of the hybrid progeny generated through artificial crosses involving artificially duplicated sexual plants, intraspecific hybrids selected within the breeding program of UFRGS and apomictic ecotypes. The F1 progeny obtained was composed of 24 plants, with high pollen viability and segregation for 1.2:1 (sex: apo) reproduction mode, evidencing the predominance of sexual hybrids, because there was a distorted segregation, as already reported in other experiments. The apomictic hybrids presented high meiotic stability. The sexual and apomictic plants generated were validated as parents at future crosses.

Keywords: Mode of reproduction, meiotic behavior, pollen viability.

Introdução

P. notatum, gramínea forrageira perene de ciclo estival, constitui-se no principal extrato herbáceo da maior parte dos campos do Rio Grande do Sul. Possui duas formas de dispersão, através de rizomas supraterrâneos e sementes, tornando-a resistente ao frio e ao pisoteio dos animais, o que a torna vantajosa competitivamente, inclusive nos locais que necessitam de recuperação de solo e pastagens (Nabinger & Dall'Agnol 2008). Esta espécie possui dois modos de reprodução distintos: apomítico e sexual.

No modo de reprodução apomítico, as sementes são clones da planta-mãe, o que pode ser um entrave, ou representar uma ferramenta valiosa para o melhoramento das culturas. Historicamente, o melhoramento de plantas apomíticas foi limitado pela seleção, avaliação e percepção natural da ocorrência de ecótipos apomíticos que eram os mais vigorosos e produtivos. Muitas cultivares utilizadas atualmente tem origem através desta forma de melhoramento (Hojsgaard *et al.* 2016), porém esta é dependente de investigação e seleção dos ecótipos superiores existentes na natureza, o que limita bastante seu potencial. Como a alternativa anterior é a menos viável, pode-se fazer melhoramento de espécies apomíticas através da viabilização de cruzamentos com correlatos de reprodução sexual, liberando a variabilidade existente em tipos poliploides. Porém, os genótipos sexuais devem compartilhar o mesmo nível de ploidia dos autotetraploides selvagens, para viabilizar o cruzamento, sendo necessária a duplicação cromossômica prévia dos parentais maternos. A cultivar comercial “Pensacola” da espécie é diploide e se reproduz sexualmente, podendo ser utilizada como fonte de sexualidade para o melhoramento da espécie. O cruzamento entre biótipos com modos de reprodução distintos - plantas sexuais poliploidizadas em laboratório, como parental materno e ecótipos nativos apomíticos como parental paterno - resulta em uma progênie que segrega em plantas sexuais e apomíticas.

É notável a importância da determinação do modo de reprodução dos híbridos gerados, antes de qualquer seleção a partir de testes em condições de campo. O objetivo do presente trabalho é analisar o comportamento meiótico e a viabilidade polínica para atestar sobre a estabilidade reprodutiva da progênie para serem usadas como futuros genitores e direcioná-las dentro do programa de melhoramento. Os materiais mais estáveis reprodutivamente e que apresentem boa produção de forragem em testes a campo serão candidatos ao registro como novas cultivares.

Material e métodos

Os híbridos analisados no presente trabalho pertencem às famílias ‘KC’ (‘WKS63’ x “Bagual”), ‘KD’ (‘WKS92’ x “Bagual”), ‘KE’ (‘D25’ x “Bagual”), ‘KF’ (‘D16’ x ‘D3’) e ‘KN’ (‘B2’ x ‘C2’). Das 139 sementes obtidas, 24 plantas adultas foram avaliadas, sendo nominadas: KC1, KD1, KD2, KD5, KD6, KD7, KD9, KE1, KF1, KF2, KF3, KF4, KF6, KF7, KF8, KF9, KF10, KF15, KF16, KF17, KN2, KN3, KN4 e KN5.

Avaliações do modo de reprodução

As análises do modo de reprodução da progênie híbrida segregante foram feitas nas inflorescências em antese. Estas inflorescências foram fixadas em FAA [etanol 95% (40 ml): água destilada (14ml): formalina 40% (3ml): ácido acético glacial (3ml)] e armazenadas em álcool 70% em geladeira até a dissecação dos ovários e clareamento por desidratação alcoólica e salicilato de metila (Young *et al.* 1979, Acuña *et al.* 2007). Os ovários foram observados em microscópio de contraste interferencial e foram distinguidos, se sexuais ou apomíticos, através da morfologia do saco embrionário. Cerca de 40 ovários de cada planta foram avaliados para determinação do modo de reprodução.

Análises meióticas e viabilidade polínica

As análises meióticas foram efetuadas em células-mãe do grão de pólen das plantas apomíticas obtidas dos cruzamentos intraespecíficos, detectadas através das avaliações do modo de reprodução, visto que as plantas de modo de reprodução sexual serão utilizadas futuramente como receptoras de pólen, não sendo utilizado seu próprio pólen para os cruzamentos.

Inflorescências foram coletadas em seu estágio inicial, fixadas em solução 3:1 (álcool etílico absoluto: ácido acético glacial) e estocadas em álcool 70% até o procedimento de preparação das lâminas com carmim propiônico 1% e visualização sob microscópio óptico (40X). Para verificação do pareamento cromossômico, as contagens foram feitas na fase I da meiose, em diacinese, em no mínimo 20 células por planta (Dahmer *et al.* 2008; Simioni and Valle 2011).

As avaliações da viabilidade polínica foram efetuadas com inflorescências em estágio maduro, preparadas e analisadas da mesma forma das inflorescências utilizadas para análises meióticas. Os grãos de pólen corados são potencialmente viáveis e os polens enrugados ou incolores são considerados inviáveis. Foram contados cerca de 1000 grãos de pólen maduros por planta em quatro lâminas preparadas.

Resultados e discussão

Análise do Modo de Reprodução

Todas as 24 plantas obtidas tiveram seu modo de reprodução determinado (Tabela 1). As plantas com sacos embrionários múltiplos, uma célula central binucleada (os núcleos polares) e sem a presença de antípodas são classificadas como apomíticas (Figura 1b). A presença de ovários apomíticos e sexuais na mesma planta as caracteriza como apomíticas facultativas. As plantas sexuais (Figura 1a) possuem apenas um saco embrionário por óvulo, originado na redução funcional do megásporo, apresentando uma célula-ovo e dois núcleos polares próximos à micrópila e um aglomerado de células antípodas em direção à chalaza (Quarin *et al.* 2001).

Foram encontrados 13 genótipos sexuais e 11 apomíticos dentre os híbridos analisados. A razão entre os genótipos sexuais e apomíticos foi de 1,2:1, próximo do esperado que seria 1:1 para herança monogênica tetrassômica com aposporia como um caráter dominante. Em progênies híbridas segregantes de *P. notatum*, Acuña *et al.* (2011) encontraram as proporções de 4,6:1 e 4,3:1 na primeira e segunda gerações de progênies híbridas segregantes, respectivamente, diferente do que seria esperado. Em outras avaliações de modo de reprodução em progênies híbridas segregantes da espécie, foram encontradas razões sex:apo de 2,8:1 (Martinez *et al.* 2001), 6,5:1 (Stein *et al.* 2004) e 1:2,1 (Weiler *et al.* 2017).

Estes resultados mostram uma distorção com desvio tendendo para a progênie sexual. Martinez *et al.* (2001) consideram que o 'apo-locus' em *P. notatum* é ligado a um alelo letal responsável por taxas distorcidas de segregação. Burton (1982) demonstrou que o ambiente tem pouco ou nenhum efeito na expressão da apomixia em *P. notatum*. Zilli *et al.* (2015) encontraram segregação entre sexuais e apomíticos que vão desde de 1:1 até 7:1 entre famílias de cruzamentos intraespecíficos em *P. notatum*, concluindo que o nível de apomixia depende da combinação dos parentais sexuais e apomíticos. A planta KF8 apresentou 31 ovários exclusivamente apomíticos e dez sacos embrionários continham um saco sexual e um apomítico (Figura 1c). Hojsgaard *et al.* (2013) avaliaram a competição entre o desenvolvimento sexual e apomítico de óvulos e sementes com ambos sacos embrionários no mesmo ovário em um estudo com *P. malacophyllum*, e observaram a sobrevivência do saco apomítico e degeneração do saco sexual, sugerindo ser esse um efeito epigenético negativo, com desregularização do padrão gênico responsável pela apomixia. Desta maneira, ocorrendo efeito de depressão endogâmica após a fertilização que acaba por reduzir a frequência da sexualidade efetiva. Na ocorrência de ovários que apresentam os dois sacos, o sexual degenera, o apomítico se desenvolve e a planta pode ser considerada como apomítica.

Análises meióticas

Foi possível analisar todas as fases da meiose dos híbridos apomíticos. As análises das associações cromossômicas em diacinese nas células-mãe dos grãos de pólen confirmaram a condição poliploide dos híbridos apomíticos submetidos às avaliações.

O comportamento meiótico foi típico de poliploides, com associações cromossômicas bi e tetravalentes (Tabela 2). As taxas mais altas de anormalidades na diacinese foram observadas nas plantas KD1 e KD2 com 78 e 100% de células anormais, respectivamente (Tabela 3). No entanto, tomando o total de células analisadas em todas as fases da meiose, apenas 14,58 e 23,43% demonstraram anormalidades (Tabela 3). Estes genótipos mostraram mais associações bivalentes, demonstrando tendência à regularização do pareamento cromossômico, ainda que Quarin *et al.* (2001) comentem que tetraploides apomíticos costumam apresentar associações tetravalentes.

Outros genótipos com anormalidades acima de 40% foram KF6 (53,73%), KF16 (42,86%) e KN5 (54,55%). A planta KD7 apresentou menor taxa de

anormalidade na diacinese, que foi de 25% (Tabela 3). Pessim *et al.* (2010) observaram alta estabilidade meiótica em genótipos híbridos e genitores de *P. maximum*, com anormalidades na faixa de 6,7 a 14,2%, como segregação irregular de cromossomos, aderência e ausência de citocinese, porém sem comprometer a viabilidade polínica.

Os indivíduos que apresentaram maior porcentagem de células totais anormais foram KD2, KF10 e KN5, com 23,43; 18,71 e 20,37% respectivamente. O indivíduo KD1 apresentou ascensão precoce na metáfase I em 32,94% das células analisadas e pontes na anáfase II em 80%. Entretanto, no total de células analisadas, apenas 14,58% mostraram anormalidades. As plantas KD2, KD5 e KD7 apresentaram índices mais altos de anormalidades na anáfase II, com 100, 66,66 e 100% respectivamente. A planta KD5 apresentou ainda cromossomos retardatários na anáfase I em 52,17% das células e ascensão precoce na metáfase II em 44,44% das células. KD7 mostrou presença de pontes na anáfase I em 78,57% das células. Apesar destas anormalidades pontuais visualizadas, no total de células, as irregularidades foram de 23,43% (KD2), 16,92% (KD5) e 15,20% (KD7). Todos os genótipos, com exceção de KF16, apresentaram alguma formação de tríades como produto meiótico. As plantas KD7, KF8, KF10, KF16 e KN5 também formaram díades, e em KD1, KD7, KF10 e KN3 foram observadas políades. A taxa mais alta de produtos meióticos anormais foi encontrada na planta KF6 com 16,66% de anormais, seguida de KN3, com 12,38% e KF3, com 10,53%. A planta KD5 apresentou o menor índice de anormalidades no produto final da meiose, apenas em 0,96% das células.

No trabalho de Dahmer *et al.* (2008), com 36 acessos de *P. notatum* coletados no estado do Rio Grande do Sul, configurações uni, bi, tri e tetravalentes foram encontradas. Os autores afirmam que este fato ocorre pelo modo de reprodução da espécie, que também pode se reproduzir de forma vegetativa, tendo o pólen papel de fecundar o endosperma apenas, já que a espécie é pseudogâmica (Pagliarini and Pozzobon 2004), o que necessita de alguma viabilidade polínica, porém não se torna impeditivo para a fertilidade destas plantas.

Outros estudos em espécies de gramíneas forrageiras tetraploides ($2n=4x=40$) expuseram anormalidades nos pareamentos cromossômicos e associações multivalentes na diacinese: Pagliarini *et al.* (2001); Reis *et al.* (2008); Simioni and Valle (2011); Araújo *et al.* (2005); Risso-Pascotto, Pagliarini e Valle (2005); Quarin (1994); Caetano *et al.* (2006).

De acordo com Sybenga (1992), plantas poliploides podem apresentar anormalidades que são inerentes a tal condição, podendo gerar polens com número cromossômico desequilibrado, fenômeno que pode afetar a fertilidade masculina destes indivíduos. Esse episódio pode ocasionar o aparecimento de células que exponham cromossomos retardatários, pontes, ascensão precoce e diversas outras anormalidades raras.

Viabilidade polínica

Todos os 29 genótipos analisados apresentaram alta viabilidade polínica, tanto os de modo de reprodução sexual, quanto os apomíticos facultativos (Tabela 4). Vinte e um genótipos híbridos mostraram mais de 90% de polens viáveis, representando 72% do total. Estes resultados demonstram que, apesar de observadas alterações meióticas nas células-mãe dos grãos de pólen, tal fato não afetou a viabilidade polínica.

Mendes-Bonato *et al.* (2002), em um estudo com *Urochloa decumbens*, encontraram altas taxas de anormalidades meióticas nos acessos da espécie, estimando a esterilidade polínica média de 52,73%. Entretanto, mesmo com alta taxa de esterilidade, a produção de sementes não foi afetada, o que levou os pesquisadores a crer que estas plantas eram apomíticas. Simioni e Valle (2011) consideraram satisfatória a porcentagem de grãos viáveis, variando de 61,36% à 64,86%, observados em plantas recém poliploidizadas artificialmente de *U. decumbens*, afirmando que essas plantas poderiam ser consideradas como genitores nos blocos de policruzamentos no programa de melhoramento da espécie. Híbridos tetraploides obtidos dos cruzamentos entre *Urochloa ruziziensis* e *U. brizantha* alcançaram índices médios de viabilidade polínica de 52,76% (Risso-Pascotto; Plagiarini; Valle, 2005).

Os genitores dos híbridos F1, em trabalho de Krycki, Simioni e Dall'Agnol (2016) também apresentaram alta viabilidade polínica. Os genótipos que sofreram duplicação cromossômica, 'WKS3', 'WKS63' e 'WKS92' apresentaram 92,3, 88,7 e 85,7% de polens férteis, respectivamente. Os outros genitores também apresentaram viabilidade acima de 85%, com exceção do genótipo 'D25', que apresentou 74,7% de fertilidade. No trabalho de Dahmer *et al.* (2008), acessos de *P. notatum* apresentaram viabilidade de pólen variando de 81 a 91,5%. Em *P. lepton*, Reis *et al.* (2008) também encontraram polens férteis em taxas que variaram de 88,99 a 95,06%.

Comparando dados apresentados para viabilidade polínica em experimentos conduzidos com o gênero *Urochloa* e com o gênero *Paspalum*, pode-se observar as maiores porcentagens de viabilidade com as espécies, acessos e híbridos desse último, ainda que todos os autores que trabalharam com *Urochloa* consideraram satisfatórios os índices encontrados em seus ensaios, sempre validando-os como genitores em seus esquemas de hibridações.

Conclusões

- Os genótipos híbridos foram classificados conforme seu modo de reprodução e orientados para novos cruzamentos dentro do programa de melhoramento.
- Todas as plantas híbridas apresentaram alta viabilidade polínica;
- O genótipo KF8, que apresentou ovários com modo de reprodução apomítico e sexual concomitantes, será direcionado como doador de pólen nos cruzamentos futuros.

Referências Bibliográficas

- Acuña CA, Blount AR, Quesenberry KH, Hanna WW and Kenworthy KE (2007) Reproductive characterization of bahiagrass germplasm. **Crop Science 47**: 1711-1717.
- Acuña CA, Blount AR, Quesenberry KH, Kenworthy KE and Hanna WW (2011) Tetraploid bahiagrass hybrids: breeding technique, genetic variability and proportion of heterotic hybrids. **Euphytica 179**: 227-236.
- Araújo ACG, Nóbrega JM, Pozzobon, MT and Carneiro VTC (2005) of sexuality in induced tetraploids of *Brachiaria brizantha* (Poaceae). **Euphytica 144**: 39-50
- Burton GW (1982) Improved recurrent restricted phenotypic selection increases bahiagrass forage yields. **Crop Science 22**: 1058-1061.
- Caetano CM, Bonfá BRCN and Canto MW (2006) Autotetraploidia e número cromossômico em uma cultivar de *Panicum maximum* Jacq (Gramineae/Poaceae). **Acta Agronomica 55**: 62-66.
- Carman JG, Jamison M, Elliott E, Dwivedi KK and Naumova TN (2011) Apospory appears to accelerate onset of meiosis and sexual embryo sac formation in sorghum ovules. **Plant biology 11**: 9.
- Chevre AM, Eber F, Baranger A, Hureau G, Barret P, Picault H and Renard M (1998) Characterization of backcross generations obtained under field conditions from oil seed rape wild radish F1 interspecific hybrids: an assessment of transgene dispersal. **Theoretical and Applied Genetics 97**: 90-98.
- Dahmer N, Schifino-Wittmann MT, Dall'Agnol M and Castro B (2008) Cytogenetic data for *Paspalum notatum* Flüge accessions. **Scientia Agricola 65**: 381-388.
- Hojsgaard DH, Martinez EJ and Quarin CL (2013) Competition between meiotic and apomictic pathways during ovule and seed development results in clonality. **New physiologist 197**: 336-347.
- Hojsgaard DH, Burson BL, Quarin CL and Martínez EJ (2016) Unravelling the ambiguous reproductive biology of *Paspalum malacophyllum*: a decades old story clarified. **Genetic Resourc and Crop Evolution 63**: 1063-1071.
- Krycki KC, Simioni C and Dall'Agnol M (2016) Cytoembriyological evaluation, meiotic behavior and pollen viability of *Paspalum notatum* poliploidized plants. **Crop Breeding and Applied Biotechnology 16**: 282-288.

Martínez EJ, Urbani MH, Quarin CL and Ortiz JP (2001) Inheritance of apospory in bahiagrass, *Paspalum notatum*. **Hereditas 135**: 19-25.

Mendes-Bonato AB, Valle CB, Pagliarini MS, Penteado MIO (2002) Caracterização citogenética de acessos de *Brachiaria brizantha* (Gramineae). **Boletim de Pesquisa e desenvolvimento 15**. EMBRAPA, Campo Grande, 31p.

Nabinger C and Dall'Agnol M (2008) Principais gramíneas nativas do RS: características gerais, distribuição e potencial forrageiro. In Dall'Agnol M, Nabinger C and Santos RJ (eds) **Anais do 3º simpósio de forrageiras e produção animal**. UFRGS, Porto Alegre, p.7-54.

Pagliarini MS and Pozzobon MT (2004) Meiose vegetal: um enfoque para a caracterização de germoplasma. In Peñaloza APS (ed) **Anais do II curso de citogenética aplicada a recursos genéticos vegetais**. EMBRAPA, Brasília, p. 24-41.

Pagliarini MS, Carraro LR, Freitas PM, Adamowski EV, Batista LAR and Valls JFM (2001) Cytogenetic characterization of Brazilian *Paspalum* accessions. **Hereditas 35**: 27-34.

Podio M, Siena LA, Hojsgaard D, Stein J, Quarin CL and Ortiz JPA (2012) Evaluation of meiotic abnormalities and pollen viability in aposporous and sexual tetraploid *Paspalum notatum* (Poaceae). **Plant Systematics and Evolution 298**: 1625-1633.

Quarin CL (1994) A Tetraploid cytotype of *Paspalum durifolium*: cytology, reproductive behavior and this relationship to diploid *P. intermedium*. **Hereditas 121**: 115-118.

Quarin CL, Espinoza F, Martinez EJ, Pessino SC and Bovo OA (2001) A rise of ploidy level induces the expression of apomixis in *Paspalum notatum*. **Sexual Plant Reproduction 13**: 243-249.

Rebozzio RN, Sartor ME, Quarin CL and Espinoza F (2011) Residual sexuality and its seasonal variation in natural apomictic *Paspalum notatum* accessions. **Biologia Plantarum 55**: 391-395.

Reis CAO, Schifino-Wittmann MT and Dall'Agnol M (2008) Chromosome numbers, meiotic behavior and pollen fertility in a collection of *Paspalum nicorae* Parodi accessions. **Crop Breeding and Applied Biotechnology 8**: 212-218.

Risso-Pascotto C, Pagliarini MS and Valle CB (2005) Multiple spindle and cellularization during microsporogenesis in an artificial induced tetraploid accession of *Brachiaria ruziziensis* (Gramineae). **Plant Cell Reports 23**: 522-527.

Simioni C and Valle CB (2011) Meiotic analysis in induced tetraploids of *Brachiaria decumbens* Stapf. **Crop Breeding and Applied Biotechnology 11**: 43-49.

Stein J, Quarin CL, Martinez EJ, Pessino SC and Ortiz JPA (2004) Tetraploid races of *Paspalum notatum* show polysomic inheritance and preferential chromosome pairing around the apospory-controlling locus. **Theoretical and Applied Genetics 109**: 186-191.

Sybenga J (1992) Manipulation of genome composition. B. Gene dose: duplication, polyploidy and gametic chromosome number. In Springer-Verlag (Ed) **Cytogenetics and plant breeding**. Springer Verlag, Berlin, p. 327-371.

Weiler RL, Krycki KC, Guerra D, Simioni C and Dall'Agnol M (2015) Chromosome doubling in *Paspalum notatum* var. saure (cultivar Pensacola). **Crop Breeding and Applied Biotechnology 15**: 106-111.

Weiler LR, Dall'Agnol M, Simioni C, Krycki KC, Pereira EA, Machado JM and Motta EAM (2018) Intraespecific tetraploid hybrids of *Paspalum notatum*: agronomic evaluation of segregation progeny. **Scientia Agricola 75**: 36-42.

Young BA, Sherwood RT and Bashaw EC (1979) Cleared-pistil and thicksectioning techniques for detecting aposporus apomixis in grasses. **Canadian Journal of Botany 57**: 1668-1672.

Zilli AL, Brugnoli EA, Marcón F, Billa MB, Rios EF, Martínez EJ and Acuña CA (2015) Heterosis and Expressivity of Apospory in Tetraploid Bahiagrass Hybrids. **Crop Science 55**: 1189-1201.

Tabela 1. Número e porcentagem (%) de sacos meióticos (S), apomíticos (A), que apresentam sacos sexuais e apomíticos no mesmo ovário (SA), não identificados (NI), total de ovários analisados (T) e modo de reprodução (MR) das plantas híbridas F1.

GENÓTIPO	S	A	SA	NI	T	MR
KC1	35	0	0	5	40	sex
KD1	16	3	0	21	40	apo fac
KD2	14	3	0	23	40	apo fac
KD5	60	3	0	17	80	apo fac
KD6	28	0	0	32	60	sex
KD7	60	2	0	18	80	apo fac
KD9	23	0	0	17	40	sex
KE1	30	0	0	44	74	sex
KF1	18	0	0	22	40	sex
KF2	35	0	0	45	80	sex
KF3	7	6	0	67	80	apo fac
KF4	21	0	0	18	39	sex
KF6	13	1	0	66	80	apo fac
KF7	30	0	0	10	40	sex
KF8	0	31	10	8	49	apo fac
KF9	32	0	0	41	73	sex
KF10	14	3	0	23	40	apo fac
KF15	28	0	0	22	50	sex
KF16	12	5	0	58	75	apo fac
KF17	37	0	0	45	82	sex
KN2	26	0	0	54	80	sex
KN3	26	2	0	12	40	apo fac
KN4	19	0	0	61	80	sex
KN5	23	6	0	51	80	apo fac

*sex=sexual

**apo fac=apomítico facultativo

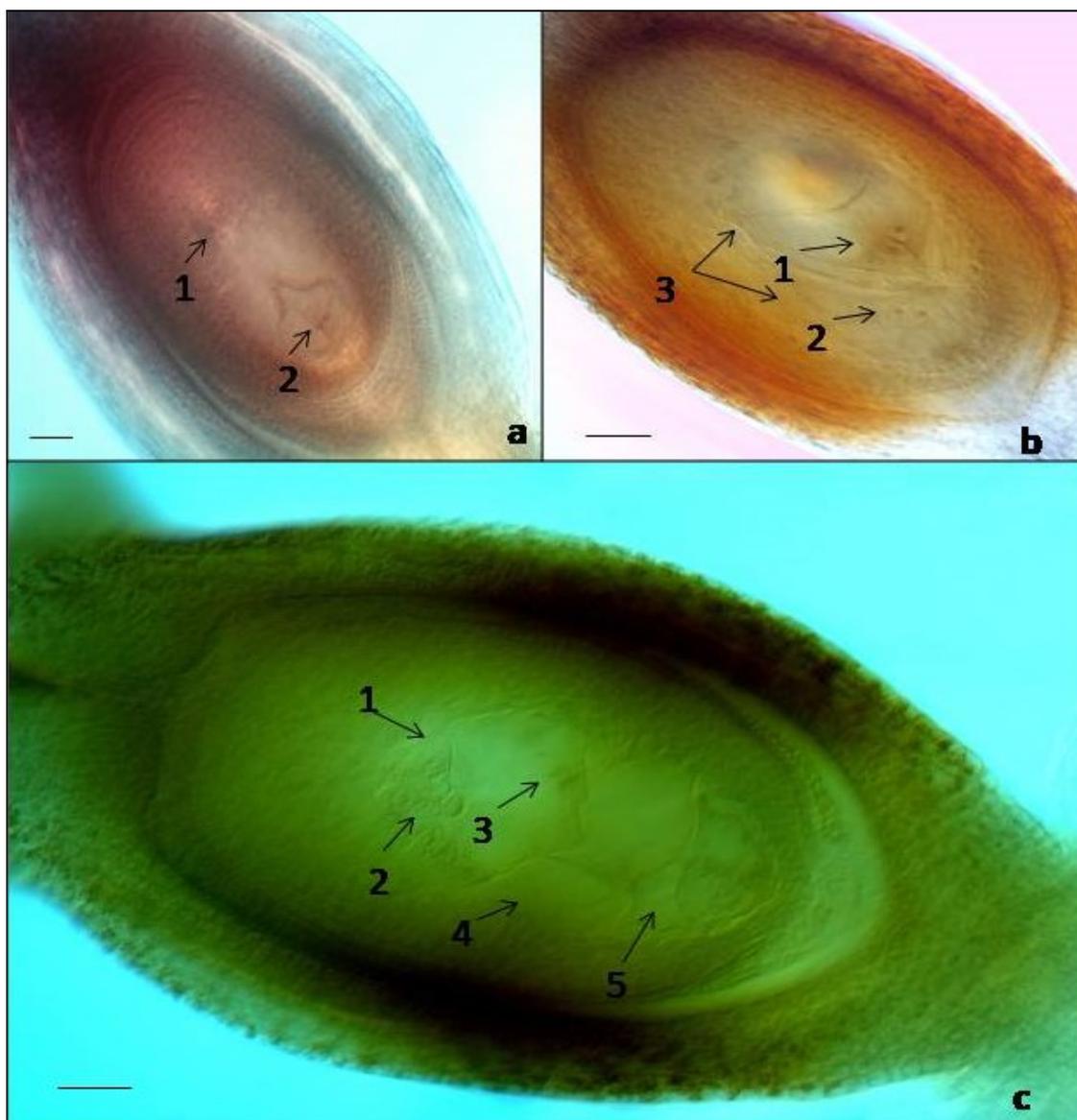


Figura 1. Morfologia dos sacos embrionários. **a)** Ovário sexual da planta KE1 com presença de antípodas (1) e núcleos polares (2). **b)** Ovário apomítico da planta KF16 apresentando núcleos polares (1 e 2) e sacos múltiplos (3). **c)** Ovário misto da planta KF8: apomíticos (4 e 5) e sexual (1) com presença de antípodas (2) e núcleos polares (3). Escala 10 μ m.

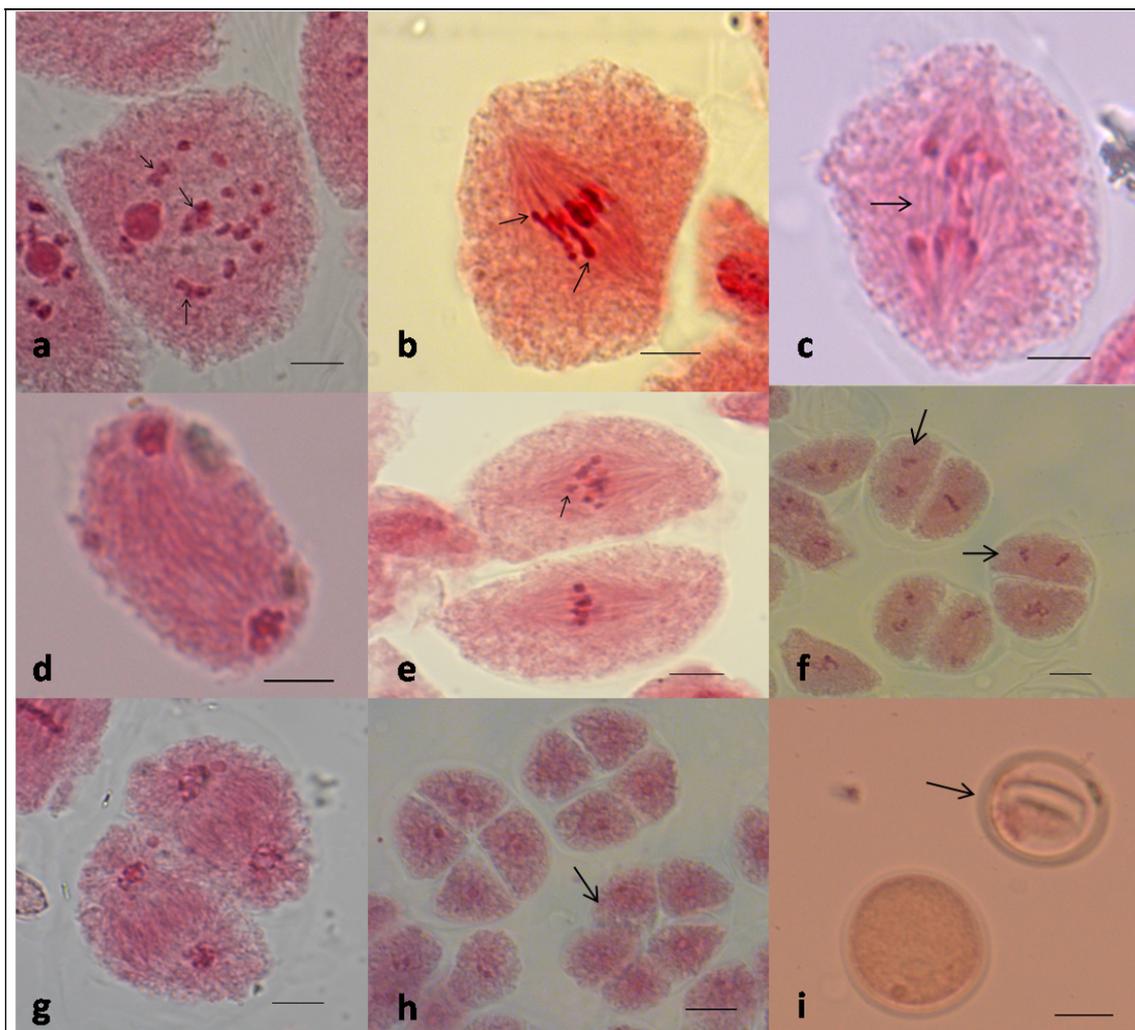


Figura 2. Principais anormalidades meióticas da progênie. **a)** Diacinese (indivíduo KD1): presença de associações quadrivalentes (setas). **b)** Metáfase I (indivíduo KF3) com ascensão precoce (setas). **c)** Anáfase I (indivíduo KC1) apresentando ponte cromossômica (seta). **d)** Telófase I (indivíduo KC1) normal. **e)** Metáfase II (indivíduo KF3) com assincronia e apresentando ascensão precoce (seta). **f)** Anáfase II (indivíduo KN3) com assincronia (setas). **g)** Telófase II (indivíduo KD2) normal. **h)** Microsporócitos (indivíduo KN3) apresentando tétrades e políade (seta). **i)** Grãos de pólen viável e inviável (seta). Escala 10 μ m.

Tabela 2. Configurações meióticas da fase de diacinese (prófase I) dos híbridos F1 apomíticos.

Genótipo	Número cromossômico	Número de células analisadas	Média de associações observadas (alcance)			
			I	II	III	IV
KD1	40	50	0	2,92	0	0,84
			0	(0-20)	0	(0-11)
KD2	40	22	0	7,05	0	1,73
			0	(0-20)	0	(0-10)
KD5	40	33	0	3,15	0	0,45
			0	(0-20)	0	(0-9)
KD7	40	44	0	5,18	0	0,57
			0	(0-20)	0	(0-10)
KF3	40	72	0	2,85	0	0,22
			0	(10-20)	0	(0-3)
KF6	40	67	0	2,27	0	0,3
			0	(9-20)	0	(0-5)
KF8	40	49	0	1,71	0	0,16
			0	(14-20)	0	(0-3)
KF10	40	32	0	3,91	0	0,47
			0	(10-20)	0	(0-5)
KF16	40	35	0	2,13	0	0,19
			0	(14-20)	0	(0-3)
KN3	40	26	0	2,08	0	0,12
			0	(16-20)	0	(0-2)
KN5	40	44	0	2,89	0	0,34
			0	(10-20)	0	(0-5)

Tabela 3. Anormalidades meióticas registradas nos indivíduos de modo de reprodução apomítico da progênie híbrida F1.

Indivíduo	Fases	Nº células analisadas	Nº células anormais (%)	Principais anormalidades Nº células (%)
KD1	Diacinese	50	39 (78)	Múltiplas associações: 39 (78)
	Metáfase I	85	29 (34,11)	Asc. Precoce: 28 (32,94) Retardatários: 1 (1,17)
	Anáfase I	10	9 (90)	Retardatários: 1 (10) Pontes: 8 (80)
	Telófase I	91	0	
	Metáfase II	8	4 (50)	Asc. Precoce: 4 (50)
	Anáfase II	3	3 (100)	Retardatários: 1 (33,33) Pontes: 2 (66,66)
	Telófase II	5	5 (100)	Assincronia: 5 (100)
	Produtos meióticos	133	7 (5,26)	Políades: 2 (1,50) Tríades: 5 (3,76)
Nr. total de células		385	60 (14,58)	
KD2	Diacinese	22	22 (100)	Múltiplas associações: 22 (100)
	Metáfase I	140	38 (27,14)	Asc. Precoce: 38 (27,14)
	Anáfase I	4	3 (75)	Pontes: 3 (75)
	Telófase I	45	5 (11,11)	Retardatários: 5 (11,11)
	Metáfase II	15	0	
	Anáfase II	2	2 (100)	Assincronia: 2 (100)
	Telófase II	1	0	
	Produtos meióticos	75	2 (2,67)	Tríades: 2 (2,67)
Nr. total de células		304	72 (23,68)	
KD5	Diacinese	33	33 (100)	Múltiplas associações: 33 (100)
	Metáfase I	197	39 (19,80)	Asc. Precoce: 39 (19,79)
	Anáfase I	23	23 (100)	Retardatários: 12 (52,17)
	Telófase I	89	4 (4,49)	Retardatários: 4 (4,49)
	Metáfase II	9	5 (55,55)	Asc. Precoce: 4 (44,44) Retardatários: 1 (11,11)
	Anáfase II	3	2 (66,67)	Assincronia: 2 (66,66)
	Telófase II	3	1 (33,33)	Assincronia: 1 (33,33)
	Produtos meióticos	104	1 (0,96)	Tríades: 1 (0,96)
Nr. total de células		461	78 (16,92)	
KD7	Diacinese	44	11 (25)	Múltiplas associações: 10 (22,73) Associações tetravalentes: 1 (2,27)
	Metáfase I	136	44 (32,35)	Asc. Precoce: 44 (32,34)

Anáfase I	14	11 (78,57)	Pontes: 11 (78,57)
Telófase I	104	7 (6,73)	Pontes: 7 (6,73)
Metáfase II	14	1 (7,14)	Asc. Precoce: 1 (7,14)
Anáfase II	1	1 (100)	Assincronia: 1 (100)
Telófase II	3	3 (100)	Assincronia: 3 (100)
Produtos meióticos	276	12 (4,35)	Díades: 2 (0,72)
			Tríades: 9 (3,26)
			Políades: 1 (0,36)
Nr. Total de células	592	90 (15,20)	
KF3			
Diacinese	72	21 (29,17)	Múltiplas associações: 21 (29,17)
Metáfase I	158	97 (61,39)	Asc. Precoce: 97 (61,39)
Anáfase I	8	7 (87,5)	Retardatários: 2 (25)
			Pontes: 5 (62,5)
Telófase I	90	0	
Metáfase II	13	8 (61,54)	Asc. Precoce: 4 (30,77)
			Pontes: 1 (7,69)
			Assincronia: 3 (23,07)
Anáfase II	1	1 (100)	Ponte: 1 (100)
Telófase II	37	10 (27,03)	Pontes: 1 (2,70)
			Assincronia: 9 (24,32)
Produtos meióticos	57	6 (10,53)	Tríades: 6 (10,53)
Nr. Total de células	436	150 (34,40)	
KF6			
Diacinese	67	36 (53,73)	Múltiplas associações: 36 (53,73)
Metáfase I	187	15 (8,02)	Asc. Precoce: 14 (7,49)
			Retardatários: 1 (0,53)
Anáfase I	71	17 (23,94)	Retardatários: 1 (1,41)
			Pontes: 16 (22,54)
Telófase I	172	2 (1,16)	Pontes: 2 (1,16)
Metáfase II	17	3 (1,65)	Assincronia: 3 (17,65)
Anáfase II	4	2 (50)	Assincronia: 2 (50)
Telófase II	30	2 (6,67)	Assincronia: 2 (6,66)
Produtos meióticos	6	1 (16,67)	Tríades: 1 (16,66)
Nr. Total de células	554	78 (14,08)	
KF8			
Diacinese	49	16 (32,65)	Múltiplas associações: 16 (32,65)
Metáfase I	62	16 (25,81)	Asc. Precoce: 15 (24,19)
			Retardatários: 1 (1,61)
Anáfase I	10	2 (20)	Retardatários: 1 (10)
			Pontes: 1 (10)
Telófase I	127	2 (1,57)	Pontes: 2 (1,57)

	Metáfase II	13	5 (38,46)	Assincronia: 5 (38,46)
	Anáfase II	7	2 (28,57)	Assincronia: 2 (28,57)
	Telófase II	28	4 (14,29)	Assincronia: 4 (14,29)
	Produtos meióticos	116	10 (8,63)	Díades: 3 (2,59) Tríades: 7 (6,03)
	Nr. Total de células	412	57 (13,83)	
KF10	Diacinese	32	12 (37,5)	Múltiplas associações: 12 (37,5)
	Metáfase I	62	33 (53,23)	Asc. Precoce: 28 (45,16) Retardatários: 3 (4,84) Micronúcleo: 2 (3,23)
	Anáfase I	10	5 (50)	Retardatários: 2 (20) Pontes: 2 (20) Micronúcleo: 1 (10)
	Telófase I	78	8 (10,26)	Retardatários: 5 (6,41) Pontes: 3 (3,85)
	Metáfase II	48	3 (6,25)	Assincronia: 3 (6,25)
	Anáfase II	14	4 (28,57)	Assincronia: 4 (28,57)
	Telófase II	63	9 (14,29)	Micronúcleo: 2 (3,17) Assincronia: 7 (11,11)
	Produtos meióticos	158	13 (8,23)	Díades: 3 (1,90) Tríades: 8 (5,06) Políades: 2 (1,27)
	Nr. Total de células	465	87 (18,71)	
KF16	Diacinese	35	15 (42,86)	Múltiplas associações: 15 (24,86)
	Metáfase I	155	10 (6,45)	Asc. Precoce: 10 (6,45)
	Anáfase I	61	10 (16,9)	Retardatários: 4 (6,56) Pontes: 5 (8,20) Micronúcleo: 1 (1,64)
	Telófase I	45	0	
	Metáfase II	36	3 (8,33)	Assincronia: 3 (8,33)
	Anáfase II	33	7 (21,21)	Pontes: 1 (3,03) Assincronia: 6 (18,18)
	Telófase II	69	3 (4,35)	Assincronia: 3 (4,35)
	Produtos meióticos	57	5 (8,77)	Díades: 5 (8,77)
	Nr. Total de células	491	53 (10,79)	
KN3	Diacinese	26	9 (34,62)	Múltiplas associações: 9 (34,62)
	Metáfase I	103	1 (2,70)	Asc. Precoce: 1 (0,97)
	Anáfase I	35	7 (20)	Retardatários: 4 (11,43) Pontes: 3 (8,57)

	Telófase I	85	1 (1,18)	Pontes: 1 (1,18)
	Metáfase II	55	16 (29,09)	Asc. Precoce: 5 (9,09) Assincronia: 11 (20)
	Anáfase II	26	13 (50)	Pontes: 2 (7,69) Assincronia: 11 (42,31)
	Telófase II	59	9 (15,25)	Micronúcleo: 1 (1,69) Assincronia: 8 (13,56)
	Produtos meióticos	105	13 (12,38)	Tríades: 10 (9,52) Políades: 3 (2,86)
Nr. Total de células		495	69 (13,94)	
KN5	Diacinese	44	24 (54,55)	Múltiplas associações: 24 (54,55)
	Metáfase I	27	4 (14,81)	Asc. Precoce: 4 (14,81)
	Anáfase I	15	3 (20)	Retardatários: 2 (13,33) Micronúcleo: 1 (6,66)
	Telófase I	86	1 (1,16)	Retardatários: 1 (1,16)
	Metáfase II	21	6 (28,57)	Asc. Precoce: 3 (14,29) Assincronia: 3 (14,29)
	Anáfase II	6	4 (66,67)	Pontes: 1 (16,67) Assincronia: 3 (50)
	Telófase II	29	9 (31,03)	Assincronia: 9 (31,03)
	Produtos meióticos	42	4 (9,52)	Díades: 1 (2,38) Tríades: 3 (7,14)
Nr. Total de células		270	55 (20,37)	

Tabela 4. Viabilidade polínica dos genótipos híbridos da progênie F1, apomíticos e sexuais.

Genótipo	Viabilidade polínica (% pólenes corados)
KC1*	91,04
KD1**	99,67
KD2**	95,29
KD5**	96,69
KD6*	96,25
KD7**	86,95
KD9*	93,79
KE1*	89,40
KF1*	86,14
KF2*	91,14
KF3**	93,81
KF4*	91,01
KF6**	89,43
KF7*	91,78
KF8**	94,28
KF9*	82,15
KF10**	86,78
KF15*	89,76
KF16**	98,63
KF17*	98,66
KN2*	94,55
KN3**	96,21
KN4*	98,64
KN5**	92,72

* Sexual

** Apomítico facultativo

3. CAPÍTULO III²

Avaliações agronômicas e cruzamentos intraespecíficos em uma progênie híbrida de *Paspalum notatum*.

² Artigo elaborado conforme as normas da Anais da Academia Brasileira de Ciências.

Agronomic evaluation and intraspecific crosses of a hybrid progeny of *Paspalum notatum*.

KARINE CRISTINA KRYCKI¹, CARINE SIMIONI*¹, ROBERTO LUIS WEILER¹, MIGUEL DALL'AGNOL¹, CLEBER HENRIQUE LOPES DE SOUZA¹, EDER ALEXANDRE MINSKI DA MOTTA¹, LARISSA ARNOLD GRAMINHO¹, MARIÂNGELA GIL DE SOUZA¹, SÍLVIO ANTONIO GAVIOLI ALPE¹ e TAMYRIS NUNES DOS SANTOS¹.

1 Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia, Av. Bento Gonçalves, 7200, Caixa Postal 15100 – CEP 91450-000 – Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

Keywords: Bahiagrass, forage breeding, forage crop, pasture science.

Running read: Yield evaluation of *P. notatum* hybrids.

Academy section: Agrarian Sciences

***Correspondence to:** Carine Simioni. Email: carine.simioni@ufrgs.br

RESUMO

As pastagens nativas do Rio Grande do Sul compõem uma das principais fontes alimentares para ruminantes criados de forma extensiva. O gênero *Paspalum* possui destaque por seu notável valor forrageiro, tendo em *P. notatum* uma espécie que se adapta a diversas condições edafoclimáticas. Híbridos de *Paspalum notatum* foram avaliados a campo na Estação Experimental da UFRGS em Eldorado do Sul-RS. Estes híbridos apresentaram alta variabilidade e diferenças significativas em todos os itens avaliados, MSF (Massa Seca de Folhas), MSC (Massa Seca de Colmos), MSI (Massa Seca de Inflorescências), MM (Material Morto), MST (Massa Seca Total), TFG (Tolerância ao Frio e Geada), VPP (Vigor Pré-Primavera), NINFLO (Número de Inflorescências), PERF (Número de Perfilhos), ALT (Altura), DIAM (Diâmetro). O ecótipo “Bagual”, a cultivar comercial “Pensacola” e plantas poliploides artificiais ‘WKS3’, ‘WKS63’ e ‘WKS92’ também foram avaliadas. A planta ‘WKS3’ teve o menor desempenho para todas as variáveis analisadas. As análises estatísticas permitiram selecionar os híbridos que apresentaram maior MSF, os híbridos ‘KD9’, ‘KF4’, ‘KF17’, ‘KM2’ (sexuais) e os apomíticos facultativos ‘KD5’, ‘KF6’ e ‘KF10’, que superaram o ecótipo nativo e a cultivar comercial. Os híbridos com características agrônômicas superiores passarão por novas avaliações dentro do programa de melhoramento e são candidatas a novas cultivares para registro e proteção pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Abstract: Native pastures of Rio Grande do Sul make up one of the main food sources for ruminants raised in an extensive way. The genus *Paspalum* is notable for its remarkable forage value, with *P. notatum* a species that adapts to diverse soil and climatic conditions. Hybrids of *Paspalum notatum* were evaluated at the field at the Experimental Station of UFRGS in Eldorado do Sul, RS. These hybrids presented significant differences in all the evaluated items,

DLM (Dry Leaf Mass), DHM (Dry Harvesting Mass), DIM (Drying Inflorescence Mass), DM (Dead Material), TDM (Total Dry Mass), TCF (Tolerance to cold and frost), PSV (Pre-Spring Vigor), NINFLO (Number of Inflorescences), PERF (Number of tillers), HEI (Height), DIAM (Diameter). The “Bagual” ecotype and commercial “Pensacola” cultivar along with duplicate plants 'WKS3', 'WKS63' and 'WKS92' were also evaluated. The 'WKS3' plant had the lowest performance for all analyzed variables. The grouping analyzes allowed to select some hybrids according to the variables most relevant for the selection of the best materials and that surpassed the native ecotype and the commercial cultivar. For DLM, the KD9, KF4, KF17, KM2 (sexual) hybrids and the facultative apomitics KD5, KF6 and KF10 were selected. The hybrids with superior agronomic traits will undergo additional stages in the breeding program and are candidates for new cultivars for registration and protection by the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply.

Keywords: Forage Breeding, Genetic breeding, hibrid evaluation.

Introdução

Espécies do gênero *Paspalum* ocorrem com grande frequência nos campos em diversos ecossistemas brasileiros e produzem grande parte de forragem disponível nestas formações campestres, ocupando locais com clima tropical, subtropical e temperado quente. Diversas espécies do gênero têm se destacado, além da produção e qualidade de forragem, também pela tolerância ao frio quando comparadas com outras gramíneas tropicais e subtropicais do Rio Grande do Sul (Valls 1987).

Entre as espécies forrageiras, *Paspalum notatum* tem destaque nos campos do Rio Grande do Sul, Uruguai e Argentina. Esta importante espécie está incluída, segundo Valls *et al.* (2009), nas chamadas “Plantas para o futuro” devido ao seu potencial produtivo. Também apresenta resistência ao pastejo, sendo estimulada por este, devido à presença de rizomas supraterrâneos que servem para reserva de nutrientes.

O programa de melhoramento desta espécie visa obter e avaliar agronomicamente seus híbridos, selecionar os superiores para as características agrônômicas, que sejam competitivos, e que possam ser registrados e protegidos para serem disponibilizados a produtores para a compra de sementes. O cruzamento de plantas sexuais tetraploides induzidas através do uso de colchicina, com ecótipos nativos tetraploides apomíticos é um dos caminhos para buscar híbridos superiores que tenham suas características fixadas através da apomixia. Este modo de reprodução é vantajoso quando temos uma cultivar altamente produtiva, pois as suas sementes gerarão clones da planta-mãe. O entrave para o melhoramento de espécies que possuam esta forma de se reproduzir passa pela ausência de variabilidade genética; entretanto, a identificação de genótipos sexuais com o mesmo número cromossômico, com posterior cruzamento entre elas, é a forma de superar esta barreira.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a produção de forragem, a capacidade de tolerância ao frio e geada e o vigor do rebrote de primavera de híbridos intraespecíficos de *P. notatum*, além de efetuar novos cruzamentos direcionados para produção de uma linhagem heterótica e outra linhagem endogâmica. As plantas que possuem características superiores e que se reproduzem através da apomixia são candidatas a novas cultivares com possibilidade de registro e proteção varietal no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Plantas sexuais que apresentam características superiores continuarão servindo como genitores e passarão por novos ciclos de cruzamentos e dentro do programa de melhoramento.

Material e Métodos

Material

Os híbridos foram obtidos através de cruzamentos artificiais que geraram 29 genótipos que foram avaliados, sendo nominadas: KC1 ('WKS63' x "Bagual"), KD1, KD2, KD5, KD6, KD7, KD9 ('WKS92' x "Bagual"), KE1 ('D25 x "Bagual"), KF1, KF2, KF3, KF4, KF6, KF7, KF8, KF9, KF10, KF15, KF16, KF17 ('D16' x 'D3'), KM2, KM3, KM4, KM5, KM6 ('WKS92' x 'WKS63') e KN2, KN3, KN4 e KN5 ('B2' x 'C2').

Em relação aos genitores, "Bagual" é um ecótipo tetraploide nativo do estado do Rio Grande do Sul, 'WKS 63', 'WKS 92' e 'WKS3' são poliploides artificiais produzidos por Weiler *et al.* (2015) e 'D3', 'C2', 'D16', 'D25' e 'B2' são híbridos intraespecíficos obtidos por Weiler *et al.* (2018) e selecionados por suas características agronômicas superiores.

Avaliações agronômicas

Este estudo foi conduzido no município de Eldorado do Sul, no estado do Rio Grande do Sul (latitude 30°29' S, longitude 51°06' W, altitude 62m). O clima local é Cfa, temperado sem estação seca definida. As temperaturas médias anuais mínimas e máximas da região são 14°C e 24,2 °C, respectivamente, com uma temperatura média anual de 19,6 °C. A precipitação pluviométrica média anual é de 1398 mm e a umidade relativa do ar média anual de 79% (Mota *et al.* 1971).

O solo da unidade experimental pertence à Unidade de Mapeamento São Jerônimo, classificado como Argissolo Vermelho distrófico típico – Pvd (Streck *et al.* 2008). Na área experimental (168 m²), anterior à implantação do experimento, foram aplicados e incorporados ao solo 1600 kg.ha⁻¹ de calcário do tipo filler (PRNT 100%) e 180 kg.ha⁻¹ de P₂O₅ na forma de superfosfato triplo visando atender as necessidades de gramíneas estivais perenes. Ao decorrer do experimento foram aplicados de forma fracionada, 200 kg.ha⁻¹ de K₂O na forma de KCl e 380 kg.ha⁻¹ de nitrogênio na forma de sulfato de amônia, de acordo com um potencial de produção de 18 ton.ha⁻¹ de massa seca, conforme determinado em análise de solo.

Na primavera de 2015, no dia 18 de novembro, as mudas de 29 híbridos, o ecótipo nativo “Bagual”, a cultivar “Pensacola” da espécie, os genitores femininos, plantas ‘WKS63’, ‘WKS92’ e a planta apomítica ‘WKS3’ foram levadas ao campo, na Estação Experimental Agronômica da UFRGS em Eldorado do Sul, onde foram estabelecidas em plantas individuais, espaçadas 1m x 1m, com quatro repetições em um DCC (Delineamento Completamente Casualizado). Para as avaliações agronômicas, os cortes das plantas foram feitos em intervalos de aproximadamente 30 dias, quando a altura média das folhas alcançavam 30-35 cm, com resíduo de 5 cm do solo, amostrando-se toda a planta. Foram efetuados 13 cortes e medições durante três anos. No primeiro ano foram realizados três cortes nas datas 24/02/2016, 23/03/2016 e 04/05/2016. No segundo ano os cortes foram realizados em 25/11/2016, 04/01/2017, 08/02/2017, 15/03/2017 e 09/06/2017. No terceiro foram realizados em 24/10/2017, 28/11/2017, 16/01/2018, 06/03/2018 e 17/04/2018.

Na sala de manipulação de amostras, o material colhido no campo foi pesado, separado em lâminas foliares verdes, colmos, inflorescências e material morto. Outras espécies vegetais foram descartadas, já que o objetivo desta avaliação foi avaliar a planta como indivíduo. As partes separadas foram levadas para secagem em estufa com temperatura de 60°C por 72 horas antes da pesagem.

Os dados agronômicos coletados a partir deste experimento foram: Matéria Verde (MV), pesada assim que chegaram do campo; Massa Seca de Folha (MSF), composta das lâminas foliares que foram separadas da MV e secas em estufa; Massa Seca de Colmo (MSC), composta dos colmos que foram separados da MV e secos em estufa; Massa Seca de Inflorescência (MSI) - quando havia inflorescências na amostra, estas foram cortadas logo abaixo da inserção do primeiro racemo e secas em estufa para a avaliação -; Material Morto (MM), composto do material vegetal senescente da própria planta; Massa Seca Total (MST), composta do somatório MSF+MSC+MSI+MM; Altura da planta (ALT), onde a planta foi medida, do nível do solo até a altura média das folhas no momento de cada corte; Diâmetro da Planta (DIAM), medindo a área de cobertura do solo que a planta alcança no momento de cada corte; Número de Perfilhos (PERF), efetuado através de contagem do número de perfilhos total da planta individual; Hábito de Crescimento (HC), observando se a planta tem hábito de crescimento do tipo prostrado (P) ou do tipo ereto (E) e também plantas de hábito semi-ereto (SE), características importantes para estabelecer os métodos de manejo.

Durante os meses de inverno foram feitas avaliações visuais de tolerância ao frio e a geada (TFG), onde foram dadas notas visuais de 1 a 5, onde 1 representa a planta com menos injúrias e 5 as plantas mais prejudicadas. Também foi feita a avaliação de vigor pré-primavera (VPP), onde as plantas mais vigorosas receberam nota 1 e as menos vigorosas, nota 5.

As avaliações agronômicas foram feitas durante o período de três anos em um intervalo de 30 dias aproximadamente, no período estival, ou quando atingiram cerca de 30-35 cm no período hibernal.

Cruzamentos intraespecíficos

Durante o verão 2017-2018 foram realizados cruzamentos de acordo com metodologia descrita por Burton (1948), destacando-se os perfilhos com rizomas que tinham inflorescências que expuseram as anteras e estigmas na manhã seguinte na qual ocorreu a polinização. Cerca de 30 dias depois do ensacamento, as inflorescências foram coletadas e debulhadas e as flores contendo cariopses foram separadas para a coleta das sementes. As plantas foram cruzadas de acordo com a proximidade genética entre elas, formando um grupo de sementes de plantas heteróticas e outro de sementes de plantas endogâmicas.

Análise estatística e seleção dos híbridos

Para as análises estatísticas foi utilizado o programa estatístico R. Para o ranqueamento dos híbridos foi utilizado o teste de Scott-Knott a 5% de significância, de forma a agrupar os materiais, tendo por objetivo separar as médias de tratamentos em grupos homogêneos, minimizando a variação dentro do grupo e maximizando a variação entre os grupos.

A partir dos resultados obtidos, foram selecionados os melhores híbridos apomíticos que poderão originar novas cultivares e que irão compor novos ensaios a campo. Os híbridos sexuais superiores serão direcionados como parentais femininos em futuros ciclos de cruzamentos visando ao incremento da produtividade dos materiais.

Resultados e Discussão

Todas as plantas foram avaliadas quanto ao hábito de crescimento no primeiro ano da implantação do experimento. Foram feitas avaliações de resistência ao frio e geada (RFG) e de vigor pré-primavera (VPP) dos híbridos durante os três anos de avaliação, sendo feita uma avaliação de RFG e outra de VPP ao ano (Tabela 1). Para RFG e VPP foram feitas as médias dos valores anuais.

A maioria das plantas teve desempenho regular em ambas as avaliações. No quesito tolerância ao frio e geada (TFG), as plantas KF1, KF17, KF4 e KN3 foram as que tiveram o melhor desempenho. Já para vigor pré-primavera (VPP), os genótipos que se destacaram foram KC1, KM2 e KM3 (Tabela 1).

Os genótipos da família 'F' e a planta KN3 resistiram bem ao inverno, apesar de possuírem hábito de crescimento ereto e investirem menos em estruturas de reserva (rizomas). Os genótipos de hábito prostrado, KM2 e KM3 mostram que, apesar de menor resistência ao frio, mas por possuírem estruturas de reserva, puderam rebrotar melhor na primavera do que os outros materiais.

A Tabela 2 apresenta a alta correlação (0,85) da massa seca total (MST) com a massa seca de folhas (MSF). Esta correlação indica que quando selecionamos um material pela massa seca total, automaticamente também

selecionamos plantas com maior massa seca de folhas. Como a folha é a parte da planta que o animal se alimenta e que contém maior teor de nutrientes, estamos selecionando uma planta que dará ganho de peso aos animais. Altas correlações entre estas duas variáveis também foram encontradas por Motta *et al.* (2013) no gênero *Paspalum* e por Basso *et al.* (2009) em *Urochloa* (ex-*Brachiaria*) *brizantha*, correspondendo a 0,95 e 0,88, respectivamente.

Motta *et al.* (2017) também encontraram alta correlação (0,83) entre MSF e MST em híbridos interespecíficos de *Paspalum plicatulum* x *p. guenoarum*, afirmando que esta correlação torna a MSF o caráter de maior magnitude em relação a MST. Os mesmos autores concluem que não é necessária a separação morfológica, o que levaria a economia de recursos humanos e financeiros em um programa de melhoramento.

Em termos de produtividade, houve uma ampla variabilidade para todas as características observadas entre os genótipos avaliados. Um grande nível de diversidade e ocorrência de heterose também foram relatadas para características agrônômicas e morfológicas em progênies de *P. notatum* (Zilli *et al.* 2015) e nas progênies interespecíficas de diferentes espécies do grupo Plicatula do gênero (Novo *et al.* 2017). Também foi relatado diversidade acentuada em híbridos oriundos de cruzamentos de *P. leptum* e *P. guenoarum* (Pereira *et al.* 2012). Brugnoli *et al.* (2013) relataram heterose em *P. simplex* para as características de produtividade.

As análises permitiram separar os genótipos em grupos de plantas com valores médios que não diferiram estatisticamente para as características mensuradas (Tabela 3). As plantas KF1, KF2, KF4, KF8, KF10, KM2 e KN2 tiveram as maiores alturas medidas, todas de hábito ereto, com exceção do genótipo KM2 que possui hábito prostrado. A planta KF8, apesar de ter altura superior, produziu menos massa seca de folhas, o que pode ser explicado pelo seu diâmetro diminuto. Para a avaliação de altura, a planta genitora 'WKS3' foi a última colocada, permanecendo sozinha no grupo 'e'; diferindo do ecótipo "Bagual" e também da cultivar "Pensacola".

Os maiores diâmetros foram atingidos pelos genótipos KD5, KD9, KM6 que não diferiram significativamente do "Bagual" e "Pensacola". Para a variável perfilhamento, o destaque foi para KD5, KD9, KM2, KM6, "Bagual" e "Pensacola". Já para o número de inflorescências, as plantas superiores foram a genitora feminina 'WKS63', o híbrido KM6 e a cultivar comercial, diferindo do ecótipo "Bagual". As plantas KM2, KM3, KM4 e KM5, de reprodução sexual, produziram mais inflorescências do que "Bagual", indicando que podem ser excelentes genitoras para cruzamentos futuros.

Na produção de colmos, a planta KD5 foi a que mais produziu, diferindo de KM2, KM6, a genitora feminina 'WKS3', "Bagual" e "Pensacola". As plantas que apresentam hábito ereto têm a característica de deslocar nutrientes para a parte aérea ao invés da parte supraterrânea, o que pode fazer com que tenham menor quantidade de rizomas, podendo causar menor resistência ao pisoteio e às interperies, visto que não alocam tantas reservas nos rizomas como as plantas de hábito prostrado. Essa característica pode afetar a sobrevivência destes genótipos. Pedreira e Brown (1996) avaliaram a persistência e o hábito de crescimento de acessos de *P. notatum*, observando que a "Pensacola" teve maior sobrevivência após o inverno do que os acessos

tifton 9 e T14, que tiveram sobrevivência de 51 e 64%, respectivamente, sendo que “Pensacola” apresentava altura menor em relação aos outros dois materiais.

As gramíneas forrageiras são constituídas por diferentes componentes morfológicos, e cada componente apresenta diferentes funções nas plantas. Porém, os animais pastejantes selecionam as lâminas foliares para se alimentar, preferencialmente. Os colmos das gramíneas exercem um importante papel de prevenção da desfolha total da planta. Desta maneira, a avaliação das folhas e colmos são as características mais importantes a serem mensuradas num programa de melhoramento. A preferência pela herbivoria das folhas é devido aos melhores atributos nutricionais destas em relação ao colmo, por possuírem maior nível de nutrientes, digestibilidade e palatabilidade.

Rodrigues *et al.* (2008) relatam que a MSF deve ser o principal atributo a ser levado em consideração no momento de selecionar os genótipos mais produtivos já que, além de ser responsável pela fotossíntese, também é a parte da qual o animal se alimenta. Segundo Minson (1990), nos estágios vegetativos iniciais, os colmos apresentam maior qualidade, e com a maturidade, devido ao alongamento dos entrenós, esta qualidade cai proporcionalmente. O colmo apresenta maior proporção de tecidos com células lignificadas em relação às folhas.

Para a variável média da MSF (Matéria Seca de Folhas), alguns genótipos se mantiveram com produções semelhantes nos três anos, tais como KD1, KD6, KD7, KF7, KF8, KF15, WKS3 e WKS63 como observado na Figura 1. No ano da implantação do experimento, os genótipos KE1, KF6, KF10, KF15, KM2 e KN2 se mostraram mais produtivos e não diferiram significativamente, ficando à frente do ecótipo “Bagual”. Este não diferiu do genótipo KF4 no primeiro ano, porém nos anos seguintes este híbrido superou o ecótipo. A cultivar “Pensacola” teve baixo desempenho em relação aos outros genótipos no primeiro ano, tendo melhorado seu desempenho nos dois anos subsequentes (Figura 1; Tabela 5). As plantas KF15 e KF8 decaíram de produção no segundo e terceiro ano; esta última não diferiu do ecótipo “Bagual” no primeiro ano.

Na média dos três anos, as plantas KD9, KF4, KF17 e KM2 superaram o ecótipo “Bagual”, a “Pensacola” e as plantas KD5, KF6 e KF10.

Para MST (Massa Seca Total) (Tabela 4), as plantas mais produtivas foram KD5, KD9, KM2, superando o ecótipo “Bagual” e os híbridos KC1, KF4, KF17 e KM6. “Pensacola” teve pior desempenho, demonstrando desta maneira a superioridade dos híbridos em relação a cultivar comercial.

Os genótipos selecionados a partir da variável MSF, levando outras variáveis em consideração, para seguir dentro do programa de melhoramento foram:

- KD5: hábito ereto; no primeiro, segundo e terceiro ano não diferiu do ecótipo “Bagual”, permanecendo assim no somatório dos três anos.
- KD9: hábito prostrado; não diferiu significativamente do ecótipo “Bagual” no primeiro e segundo ano, superando este no terceiro ano.
- KF4: hábito ereto; não diferiu significativamente do ecótipo “Bagual” no primeiro ano, porém superou este no segundo e terceiro ano. Além disso, apresentou boa tolerância ao frio e geada.

- KF6: hábito prostrado; superou o ecótipo “Bagual” no primeiro ano. No terceiro ano e no somatório dos três anos, não diferiu deste ecótipo. Para a variável diâmetro, teve bom desempenho no primeiro ano.

- KF10: hábito ereto; superou o ecótipo “Bagual” no primeiro ano, não diferiu significativamente deste no terceiro ano e nem no somatório dos três anos de avaliação.

- KF17: hábito ereto; possui boa resistência ao frio e geada, não diferiu do ecótipo “Bagual” no primeiro ano, porém superou este no segundo e terceiro ano e no somatório dos três anos.

- KM2: hábito prostrado; superou o ecótipo “Bagual” no primeiro ano, porém não diferiu significativamente do mesmo no segundo ano. No terceiro ano superou novamente o ecótipo mas no somatório dos três anos, não diferiu deste. Essa planta apresentou bom vigor pré-primavera (VPP). No terceiro ano teve ótimo desempenho para a variável altura e também para a variável diâmetro no primeiro ano e no somatório dos três anos.

A planta duplicada ‘WKS63’ apresentou número de inflorescências e MSI (matéria seca de inflorescências) alto, juntamente com KM6, demonstrando que podem ser boas produtoras de sementes para serem utilizadas em cruzamentos futuros. Para número de inflorescências (NINFLO), os genótipos da família ‘M’ (KM2, KM3, KM4, KM5, KM6) são altamente produtivos, sendo todos considerados como boas alternativas para serem utilizados como parentais maternos.

As plantas que tiverem modo de reprodução sexual e boas produtoras de MSF poderão ser avaliadas a campo e serem cruzadas entre si para uniformizar o material, com possibilidade de serem registradas e protegidas para serem lançadas como cultivar.

A planta apomítica KF8 não demonstrou boa produção de matéria seca de folhas (MSF) na média dos três anos apesar de não ter diferido significativamente do “Bagual” no ano da implantação do experimento, sendo superada por este ecótipo e pela cultivar “Pensacola” no segundo e terceiro anos.

No verão 2016/2017, utilizando os genótipos avaliados como genitores, foram realizados cruzamentos que geraram um total de 210 sementes (Tabela 5). As plantas foram cruzadas de acordo com as que produziram inflorescências no mesmo dia e de modo a gerar um grupo de plantas heteróticas e outro grupo de plantas endogâmicas para estudos futuros. Estas sementes produzirão uma nova geração que deverá ser levada a campo para avaliações agronômicas e também deverão passar por análises de modo de reprodução, viabilidade polínica e meiótica, dando continuidade ao presente trabalho.

Conclusões

- Os genótipos avaliados tiveram grande variabilidade em todas as características mensuradas;

- Para tolerância ao frio e geada (TFG), as plantas KF1, KF17, KF4 e KN3 se destacaram das demais; para vigor pré-primavera (VPP), os genótipos que se destacaram foram KC1, KM2 e KM3;

- As plantas que mais produziram MSF (Massa Seca de Folhas) foram KD9, KF4, KF17, KM2 (sexuais), seguidas das plantas KD5, KF6 e KF10, apomíticas facultativas que não diferiram significativamente do ecótipo "Bagual";

- Os cruzamentos realizados no verão 2016/2017 geraram 210 sementes, sendo 160 sementes heteróticas e 50 sementes endogâmicas que deverão ser analisadas a campo e avaliadas reprodutivamente.

- A planta 'WKS3' se mostrou com as menores produções de matéria seca de folhas (MSF) e matéria seca total (MST) durante todos os cortes.

Palavras-chave: melhoramento de forrageiras; melhoramento genético; avaliação de híbridos.

Referências bibliográficas

BASSO KC, GONÇALVES MC, LEMPP B, RESENDE RMS AND VALLE CB. 2009. Avaliação de acessos de *Brachiaria brizantha* Stapf e estimativas de parâmetros genéticos para caracteres agrônômicos. Acta Sci Agron 31: 17-22.

BRUGNOLI EA, ACUÑA CA, MARTINEZ EJ, QUARIN CL AND URBANI MH. 2013. Diversity in diploid, tetraploid, and mixed diploid–tetraploid populations of *Paspalum simplex*. Crop Sci 53: 1509-1516.

BURTON GW. 1948. Artificial fog chambre facilities *Paspalum* emasculation. J Amer Soc Agron 40: 281-282.

FACHINETTO JM, DALL'AGNOL M, HUBBER KGC AND SCHNEIDER R. 2012. Avaliação agrônômica e análise de persistência em uma coleção de acessos de *Paspalum notatum* Flugge (Poaceae). Agrária 7: 189-195.

MINSON DJ. 1990. Forage in ruminant nutrition. San Diego: Academic Press. 483 p.

MOTA FS, BEIRSDORF MIC and GARCEZ JRB. 1971. Zoneamento agroclimático do Rio Grande do Sul e Santa Catarina: normais agroclimáticos. Porto Alegre: Ministério da Agricultura- Instituto de Pesquisa Agropecuária do Sul, 80 p.

MOTTA EAM *et al.* 2013. Associações entre caracteres forrageiros de espécies do gênero *Paspalum*. UNLPam 22: 53-55.

MOTTA EAM, DALL'AGNOL M, MACHADO JM, PEREIRA EA AND SIMIONI C. 2017. Valor forrageiro de híbridos interespecíficos superiores de *Paspalum*. Rev Ciênc Agron 48: 191-198.

NOVO PE, ACUÑA CA, ESPINOZA F, MARCÓN F, QUARIN CL and URBANI MH. 2017. Hybridization and heterosis in the Plicatula group of *Paspalum*. *Euphytica* 1: 198-213.

PEREIRA EA, BARROS T, BATTISTI GK, DALL'AGNOL M, VOLKMANN GK, SILVA JAG and SIMIONI C. 2012. Variabilidade genética de caracteres forrageiros em acessos do gênero *Paspalum* em diferentes ambientes. *Pesqui Agropecu Bras* 47: 1533-1540.

RODRIGUES RC, BRENNECKE K, HERLING VR, LUZ PHC and MOURÃO GB. 2008. Produção de massa seca, relação folha/colmo e alguns índices de crescimento do *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés cultivado com a combinação de doses de nitrogênio e potássio. *Rev Bras Zootecn* 37: 394-400.

STRECK EV, DALMOLIN RSD, GIASSON E, KÄMPF N, KLAMT E, NASCIMENTO PC and PINTO LFS. 2008. Solos do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: Emater/RS. 222 p.

R CORE TEAM. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>

VALLS JFM. 1987. Recursos genéticos de espécies de *Paspalum* no Brasil. In: ENCONTRO INTERNACIONAL SOBRE MELHORAMENTO GENÉTICO DE PASPALUM. Nova Odessa Anais... Nova Odessa: IZ, p. 03-13.

WEILER RL, DALL'AGNOL M, GUERRA D, KRYCKI KC AND SIMIONI C. 2015. Chromosome doubling in *Paspalum notatum* var. saure (cultivar Pensacola). *Crop Breed Appl Biot* 15: 106-111.

WEILER RL, DALL'AGNOL M, KRYCKI KC, MACHADO JM, MOTTA EAM, PEREIRA EA and SIMIONI C. 2018. Intraespecific tetraploid hybrids of *Paspalum notatum*: agronomic evaluation of segregation progeny. *Sci Agric* 75: 36-42.

ZILLI AL, ACUÑA CA, BILLA MB, BRUGNOLI EA, MARCÓN F, MARTÍNEZ EJ and RIOS EF. 2015. Heterosis and Expressivity of Apospory in Tetraploid Bahiagrass Hybrids. *Crop Sci* 55: 1189-1201.

Tabela 1. Hábito de crescimento (E=ereto, SE=semi-ereto, P=prostrado), médias das notas tolerância ao frio e geada (TFG) e de vigor pré-primavera (VPP) dos híbridos e de seus genitores durante o período de três anos.

GEN	Hábito	TFG	VPP
BAG*	E	3.08	3.00
KC1	SE	2.92	2.42
KD1	E	3.42	3.67
KD2	SE	3.11	3.00
KD5	E	3.00	2.83
KD6	P	3.17	2.92
KD7	P	3.44	2.78
KD9	P	2.83	3.17
KE1	E	2.75	2.75
KF1	E	2.42	3.08
KF10	E	3.25	3.08
KF15	E	3.33	2.83
KF16	SE	3.25	2.92
KF17	E	2.08	2.58
KF2	E	2.83	2.92
KF3	E	2.58	3.25
KF4	E	2.00	2.58
KF6	P	2.50	2.92
KF7	E	3.08	3.00
KF8	E	3.08	2.67
KF9	E	3.25	2.67
KM2	P	3.25	2.50
KM3	P	3.08	2.42
KM4	P	3.17	3.17
KM5	P	3.42	3.42
KM6	P	3.17	2.92
KN2	E	2.58	2.92
KN3	E	2.33	3.33
KN4	P	2.56	2.67
KN5	E	3.00	3.33
PEN**	P	3.33	3.00
WKS3	P	3.33	3.42
WKS63	SE	2.83	3.33
WKS92	E	3.42	3.25

*BAG: ecótipo Bagual

**PEN: cultivar Pensacola

Tabela 2. Correlação pelo coeficiente de Pearson entre as variáveis diâmetro (DIAM), número de perfilhos (PERF), massa seca de folhas (MSF), altura (ALT), massa seca total (MST), massa seca de colmo (MSC), número de inflorescências (NINFLO).

Variável	DIAM	PERF	MSF	ALT	MST	MSC	NINFLO
DIAM							
PERF	0.71*						
MSF	0.56*	0.63*					
ALT	0.23*	0.37*	0.52*				
MST	0.56*	0.66*	0.85*	0.53*			
MSC	0.38*	0.51*	0.51*	0.43*	0.84*		
NINFLO	0.38*	0.45*	0.37*	0.32*	0.68*	0.79*	
MSI	0.29*	0.39*	0.36*	0.30*	0.72*	0.72*	0.70*

(*) Valores significativos a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Médias dos três anos das variáveis mensuradas a campo nas datas dos cortes ALT (altura), DIAM (diâmetro), PERF (número de perfilhos) e NINFLO (número de inflorescências) por genótipo (Gen).

Var		DIAM		PERF		NINFLO	
Gen	média	Gen	média	Gen	média	Gen	média
KF8	27.12 a*	KD9	82.40 a	KD9	302.73 a	KM6	166.83 a
KF10	26.15 a	KM6	81.29 a	KM2	282.40 a	WKS63	144.60 a
KF1	25.92 a	PEN	78.85 a	KM6	268.75 a	PEN	137.37 a
KM2	25.54 a	KD5	77.13 a	KD5	256.54 a	KD5	118.40 b
KN2	25.52 a	BAG	74.46 a	PEN	249.31 a	KM5	107.81 b
KF4	25.50 a	KM4	72.00 b	BAG	243.50 b	KM4	95.52 b
KF2	25.17 a	KM2	70.42 b	WKS63	239.98 b	KM3	84.33 b
KF17	24.33 b	WKS63	69.73 b	KC1	237.13 b	KM2	83.04 b
KE1	24.21 b	KC1	67.85 b	KF4	234.87 b	KC1	82.27 b
KF3	24.02 b	KM3	65.35 b	KF17	224.17 b	KD9	72.98 c
KN4	23.98 b	KF17	65.02 b	KN2	214.63 b	KN4	69.23 c
KC1	23.42 b	KM5	62.08 c	KM3	205.06 b	BAG	65.90 c
KD5	23.38 b	KF4	61.60 c	KM4	203.19 b	KF17	61.52 c
KF16	23.35 b	KF6	61.56 c	KF10	202.71 b	KD6	61.02 c
KF6	22.58 b	KE1	61.06 c	KE1	193.00 b	KN5	59.88 c
KF9	22.58 b	KD2	60.13 c	KF6	183.60 c	KN3	56.48 c
KM3	22.23 b	KN4	59.21 c	KN4	180.02 c	WKS92	50.98 c
KN3	22.08 b	KN2	58.98 c	KN3	173.94 c	KF9	48.00 c
WKS63	21.38 c	KD6	58.15 c	KM5	170.40 c	KD2	47.21 c
KM4	21.23 c	KF9	57.94 c	KF9	169.46 c	KF6	46.65 c
BAG**	21.21 c	WKS3	57.94 c	WKS3	165.81 c	WKS3	39.29 d
KF15	20.88 c	KN3	57.17 c	KF16	151.63 c	KF15	38.52 d
KF7	20.69 c	KF10	56.46 c	KF15	146.83 c	KE1	35.37 d
KD2	20.60 c	KF16	55.94 c	KF1	146.40 c	KF4	31.56 d
WKS92	19.75 c	WKS92	55.06 c	KN5	145.94 c	KF8	30.46 d
KM6	19.71 c	KN5	54.65 c	KD2	143.83 c	KF16	27.85 d
KD9	19.50 c	KF15	52.19 c	WKS92	135.31 d	KN2	27.19 d
KD6	19.08 d	KF1	48.13 d	KF8	134.96 d	KF1	26.83 d
KN5	18.96 d	KF3	47.13 d	KD6	127.73 d	KD1	24.00 d
KM5	18.58 d	KF7	46.60 d	KF3	127.12 d	KF3	23.88 d
KD1	18.50 d	KF8	42.69 e	KF7	110.33 d	KF10	21.98 d
PEN***	17.37 d	KD7	42.19 e	KD1	104.48 d	KF7	17.23 d
KD7	16.81 d	KF2	38.33 e	KF2	99.83 d	KD7	16.52 d
WKS3	11.81 e	KD1	36.44 e	KD7	77.98 d	KF2	11.88 d

*médias seguidas das mesmas letras não se diferenciam segundo teste de Scott-Knott (5%).

**BAG: ecótipo Bagual

***PEN: cultivar Pensacola

Tabela 4. Somatório das produções em gramas (g) da MSC (Massa Seca de Colmos), MSI (Massa Seca de Inflorescências) e MST (Massa Seca Total) do total de três anos por genótipo (Gen).

MSC		MSI		MST	
Gen	soma	Gen	soma	Gen	soma
KD5	623.20 a*	KM2	321.93 a	KM2	1810.51 a
WKS63	479.60 b	KD5	291.41 a	KD5	1799.90 a
KM6	451.46 b	WKS63	230.34 b	KD9	1633.08 a
KM2	431.08 b	KD9	202.18 b	WKS63	1533.43 b
BAG**	425.40 b	KM6	201.24 b	BAG	1518.70 b
PEN***	395.48 b	BAG	196.21 b	KM6	1476.67 b
KD9	380.44 c	PEN	189.13 b	KF17	1374.18 b
KC1	379.76 c	KM3	151.36 c	KF4	1362.27 b
KM3	330.31 c	KM4	150.67 c	KC1	1342.64 b
KM5	317.07 c	KM5	148.51 c	PEN	1243.91 c
KM4	316.78 c	KC1	141.78 c	KN2	1167.74 c
KN4	245.65 d	KF17	140.35 c	KF6	1121.08 c
KN3	227.28 d	KF6	118.46 c	KN4	1062.61 c
KE1	224.40 d	KN4	118.24 c	KE1	1060.76 c
KF6	221.65 d	KN3	109.94 c	KM4	1052.06 c
KF17	218.60 d	KF9	108.71 c	KM3	1044.51 c
KD6	216.76 d	KD2	106.85 c	KM5	1041.15 c
KD2	211.68 d	KD6	105.23 c	KF10	1025.02 c
WKS92	211.25 d	WKS92	102.27 c	KF9	979.59 c
KN2	198.77 d	KN2	93.99 c	KN3	951.05 c
KF9	183.64 d	KN5	89.29 c	KD2	798.10 d
KF15	165.03 d	KF15	88.85 c	KF1	783.40 d
KN5	148.92 e	KF4	73.78 d	KF16	752.01 d
KF16	147.26 e	KE1	71.25 d	KF3	696.27 d
KF4	144.92 e	KF16	59.12 d	KF15	681.32 d
KF1	138.89 e	KF1	57.91 d	KD6	674.20 d
KF10	138.77 e	KF3	51.66 d	KN5	660.04 d
KF3	106.90 e	KF8	50.88 d	WKS92	656.47 d
KF8	105.82 e	KF10	50.70 d	KF8	610.32 d
KD7	100.89 e	WKS3	50.48 d	KF7	446.33 e
KF7	82.09 e	KD7	44.56 d	KF2	426.52 e
KD1	80.84 e	KF7	41.58 d	KD7	319.91 e
KF2	50.33 e	KD1	32.64 d	KD1	302.03 e
WKS3	49.05 e	KF2	21.81 d	WKS3	269.58 e

*médias seguidas das mesmas letras não se diferenciam segundo teste de Scott-Knott (5%).

**BAG: ecótipo Bagual

***PEN: cultivar Pensacola

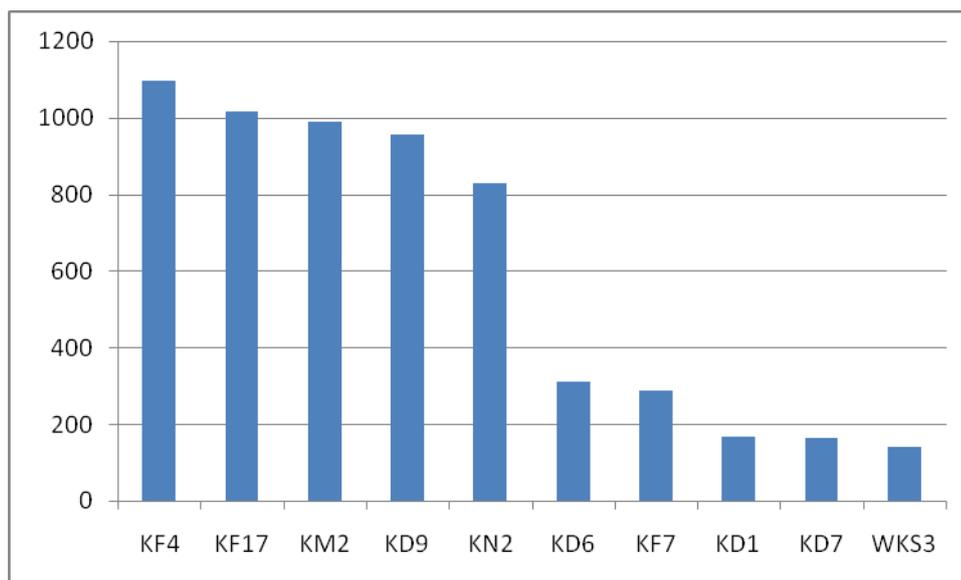


Figura 1. Gráfico do somatório da MSF (Matéria Seca de Folhas) em gramas (g) dos cinco genótipos mais produtivos e dos cinco genótipos menos produtivos durante os três anos de avaliação do experimento.

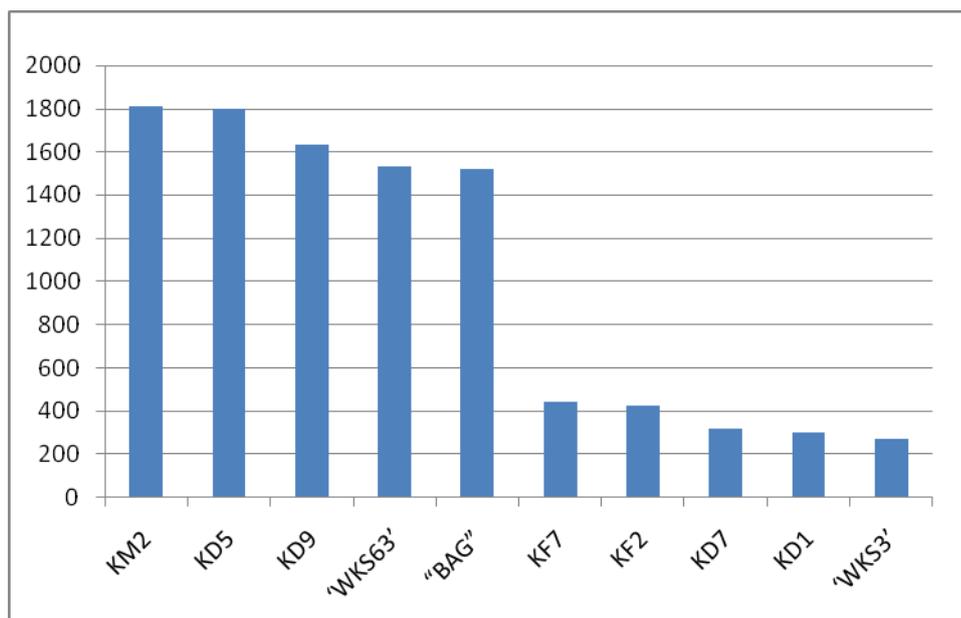


Figura 2. Gráfico do somatório da MST em gramas (g) dos cinco genótipos mais produtivos e dos cinco menos produtivos durante os três anos de avaliação do experimento.

Tabela 5. Médias das produções em gramas (g) da MSF (Matéria Seca de Folhas) por ano e somatório do total de três anos por genótipo (Gen).

Gen	Média Ano 1	Gen	Média Ano 2	Gen	Média Ano 3	Gen	Soma 3 anos
KF15	43.58 a*	KF17	92.55 a	KF4	121.54 a	KF4	1096.96 a
KM2	41.96 a	KF4	85.64 a	KD9	103.78 b	KF17	1015.21 a
KF10	40.95 a	BAG	79.72 b	KF17	100.53 b	KM2	989.72 a
KF6	38.55 a	KM2	77.70 b	KM2	95.06 b	KD9	955.07 a
KN2	36.00 a	KD9	75.74 b	KC1	87.92 c	KN2	827.46 b
KE1	34.99 a	KD5	70.98 b	WKS63	87.05 c	KD5	827.36 b
KF8	24.41 b	KN2	62.32 c	KD5	82.67 c	BAG	815.34 b
KN4	24.06 b	WKS63	60.50 c	KN2	81.57 c	KF10	786.16 b
KF7	23.78 b	KM6	60.07 c	KF10	78.50 c	WKS63	767.12 b
KF9	22.96 b	KF6	57.60 c	KN4	78.16 c	KC1	758.61 b
KD1	22.29 b	PEN	56.39 c	KF9	74.93 c	KN4	737.07 b
KF16	21.62 b	KN4	54.82 c	KE1	73.91 c	KE1	728.19 b
KC1	21.26 b	KF10	54.17 c	BAG	71.97 c	KF6	723.42 b
KM4	21.18 b	KC1	51.04 c	KN3	71.15 c	KM6	675.49 b
KF4	20.34 b	KE1	50.74 c	KM6	66.72 c	KF9	670.83 b
KD7	19.92 b	KM5	49.66 c	KF1	64.71 c	PEN	608.28 b
KM3	19.87 b	KF9	45.46 d	KF6	63.95 c	KN3	576.57 c
KD5	19.71 b	KF3	40.08 d	PEN	62.10 c	KF1	550.85 c
KD9	19.16 b	KM3	40.02 d	KF16	54.54 d	KF16	519.38 c
BAG**	18.96 b	KN3	39.33 d	KM4	54.17 d	KM4	516.65 c
KD6	17.39 b	KD2	38.83 d	KF3	53.76 d	KM3	509.11 c
KF17	16.61 b	KF1	38.39 d	KM3	49.88 d	KM5	507.84 c
KD2	14.96 c	KM4	36.45 d	KM5	49.20 d	KF3	498.36 c
KN5	14.08 c	KF16	36.37 d	KF8	39.98 d	KD2	427.63 c
KM6	13.86 c	KF2	35.54 d	KD2	37.72 d	KF8	406.59 c
KF1	11.78 c	KN5	34.32 d	KN5	35.85 d	KN5	393.10 c
WKS92	10.86 c	KD6	27.58 e	WKS92	34.01 d	KF15	372.41 c
KF2	10.81 c	KF8	26.69 e	KF15	25.99 e	KF2	325.67 d
WKS63	9.79 c	KF7	25.61 e	KD6	24.13 e	WKS92	317.67 d
KF3	9.72 c	WKS92	23.01 e	KF2	23.11 e	KD6	310.70 d
KN3	8.06 d	KF15	22.35 e	KF7	17.46 e	KF7	286.70 d
PEN***	5.28 d	KD7	14.96 f	WKS3	12.53 e	KD1	168.05 d
KM5	4.53 d	WKS3	14.22 f	KD1	10.70 e	KD7	163.90 d
WKS3	2.46 d	KD1	9.53 f	KD7	5.86 e	WKS3	141.12 d

*médias seguidas das mesmas letras não se diferenciam segundo teste de Scott-Knott (5%).

**BAG: ecótipo Bagual

***PEN: cultivar Pensacola

Tabela 6. Número de sementes heteróticas e endogâmicas geradas no cruzamento realizado no verão 2016/2017 e seus respectivos genitores.

Genitor feminino	Genitor masculino	Sementes geradas
KC1	KN5	4
KD6	KN5	35
KF1	KN5	1
KF15	KM2	19
KF4	AR**	9
KF4	AR	12
KF7	AR	3
KM4	KF10	7
KM4	KD7	8
KM4	KF8	1
KM4	KN5	1
KM4	BAG*	9
KM6	KF16	3
KN2	KD2	4
KN4	KM2	16
KN4	KF16	1
KN4	KD5	18
'WKS92'	KN3	9
Total de sementes heteróticas		160
KD6	KF8	7
KD9	KM2	3
KD9	BAG	3
KF1	KF16	2
KF15	KD2	6
KF15	KD7	5
KF2	KF8	1
KF7	KF16	3
KM3	KD7	7
KM3	KD5	3
KM4	KD7	6
KM5	KD7	2
KM6	KD7	2
Total de sementes endogâmicas		50
Total de sementes obtidas		210

*BAG: ecótipo Bagual

**AR: ecótipo André da Rocha

4. CAPÍTULO IV

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerações finais

Os híbridos de *P. notatum* tiveram boa viabilidade polínica, mesmo apresentando anormalidades meióticas típicas de sua condição poliploide, porém sem comprometer a fertilidade desses genótipos. No geral, todos estão aptos a serem parentais maternos (sexuais) ou doadores de pólen (apomíticos) em cruzamentos futuros. Foi possível identificar 13 genótipos apomíticos e 11 sexuais dentro do grupo de seis famílias ('C', 'D', 'E', 'F' e 'N') avaliadas.

Nas avaliações agronômicas, os genótipos expuseram uma grande variabilidade nas características observadas. Alguns híbridos se destacaram para as variáveis analisadas, tais como MSF (Massa Seca de Folhas), que é a principal característica para seleção de genótipos superiores. Foi possível observar que os genótipos avaliados são adaptados às características edafoclimáticas locais e possuem superioridade agronômica quando comparado com a cultivar comercial "Pensacola" e com o ecótipo nativo "Bagual" da espécie.

Os híbridos que tiveram características agronômicas superiores e demonstraram ser férteis podem ser mantidos no programa de melhoramento e após passarem por novas etapas de avaliações, podem ser candidatos a cultivares, com possibilidade de serem registrados e protegidos.

Sugere-se que novos estudos sejam efetuados para conhecer melhor o comportamento dos genótipos superiores em distintos locais e regiões. As plantas sexuais superiores podem passar por etapas de uniformização e serem lançadas como novas cultivares futuramente, em conjunto com os híbridos apomíticos superiores.

Referências Bibliográficas

- ANDRADE, B.O. *et al.* Classification of south brazilian grasslands: implications for conservation. **Applied Vegetation Science**, Bethesda, v. 22, n. 1, p. 168-184, 2019.
- ARAÚJO, S. A. C. *et al.* Evidence of sexuality in induced tetraploids of *Brachiaria brizantha* (Poaceae). **Euphytica**, Dordrecht, v. 144, n. 1/2, p. 39-50, 2005.
- ARAÚJO, S.A.C.; DEMINICIS, B.B.; CAMPOS, P.R.S.S. Melhoramento genético de plantas forrageiras tropicais no Brasil. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 57, p. 61-76, 2008.
- BARBOSA, M. R. **Caracterização e avaliação da produção de forragem de híbridos intraespecíficos selecionados de *Paspalum notatum* flügge**. 2014. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.
- BARRETO, I. L. **O gênero *Paspalum* (Gramineae) no Rio Grande do Sul**. 1974. 258 f. Dissertação (Livre-Docência - Fitotecnia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1974.
- BASHAW, E.C.; HANNA, W.W. Apomictic reproduction. *In*: CHAPMAN, G.P. (ed.) **Reproduction versatility in grasses**. Cambridge: Cambridge University Press, 1990. v. 1, p. 100-130.
- BATISTA, L.A.R.; GODOY, R. Caracterização preliminar e seleção de germoplasma do gênero *Paspalum* para produção de forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 1, p. 23-32, 2000.
- BELING, R.R. (ed.). **Anuário Brasileiro da Pecuária 2018**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 2018. 56 p.
- BRUGNOLI, E. A. *et al.* Diversity in diploid, tetraploid, and mixed diploid–tetraploid populations of *Paspalum simplex*. **Crop Science**, Madison, v. 53, n. 4, p. 1509-1516, 2013.
- BRUGNOLI, E.A. *et al.* Diversity in apomitic populations of *Paspalum simplex* Morong. **Crop Science**, Madison, v. 54, p. 1656-1664, 2014.
- BURTON, G. W. Artificial fog chambre facilitates *Paspalum* emasculation. **Journal of the American Society of Agronomy**, Washington, D.C., v. 40, n. 3, p. 281-282, 1948.

BURTON, G. W. A search for the origin of Pensacola bahiagrass. **Economic Botany**, Bronx, v. 21, p. 379-382, 1967.

BURTON, G. W.; FORBES, I. The genetic and manipulation of obligate apomixis in common bahia grass (*Paspalum notatum* Flugge). In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 8., 1960, Reading. **Proceedings** [...]. Palmerston North: Grassland Research Institute, 1960. p. 66-71.

BURTON, G. W. Breeding pensacola bahiagrass, *Paspalum notatum*: method of reproduction. **Agronomy Journal**, Madison, v. 47, p. 311-314, 1955.

CAETANO, C. M. *et al.* Autotetraploidia e número cromossômico em uma cultivar de *Panicum maximum* Jacq (Gramineae/Poaceae). **Acta Agronomica**, Palmira, v. 55, p. 62-66, 2006.

CAMERON, D. F. To breed or not to breed. In: McIVOR, J.G.; BRAY, R.A. (ed.). **Genetic resource of forage plants**. Melbourne: CSIRO, 1983. p. 237-250.

CARMAN, J.G. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory and polyembryony. **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 61, n. 1, p. 51-94, 1997.

CARMAN, J.G. *et al.* Apospory appears to accelerate onset of meiosis and sexual embryo sac formation in sorghum ovules. **Plant biology**, London, v. 11, n. 9, 2011.

CARNEIRO, V. T. C.; DUSI, D. M. A. Apomixia: em busca de tecnologias de clonagem de plantas por sementes. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 25, p. 36-42, 2002.

CARVALHO, P. C. F. *et al.* Produção animal no bioma Campos Sulinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.35, p. 156-202, 2006. Suplemento especial.

CHASE, A. **The North American species of *Paspalum***. Washington: Smithsonian Institution/United States National Museum, 1929. v. 28, part 1. Contribution from the United States National Herbarium.

CHEVRE, A. M. *et al.* Characterization of backcross generations obtained under field conditions from oil seed rape wild radish F1 interspecific hybrids: an assessment of transgene dispersal. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 97, n. 1/2, p. 90-98, 1998.

DAHMER, N. *et al.* Cytogenetic data for *Paspalum notatum* Flugge accessions. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.65, n.4, p. 381-388, 2008.

DALL'AGNOL, M.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T. Apomixia, genética e melhoramento de plantas. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v.11, n. 2, p. 127-133, 2005.

DICKINSON, T. A. Taxonomy of agamic complexes in plants: a role for metapopulation thinking. **Folia Geobotanica**, Praha, v. 33, n. 3, p. 327-332, 1998.

FACHINETTO, J. M. *et al.* Avaliação agronômica e análise de persistência em uma coleção de acessos de *Paspalum notatum* Flugge (Poaceae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 7, n. 1, p. 189-195, 2012.

FACHINETTO, J.M. **Caracterização agronômica, molecular, morfológica e determinação do nível de ploidia em uma coleção de acessos de *Paspalum notatum* Flugge**. 2010. 142 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

GATES, R.N.; QUARIN, C.L.; PEDREIRA, C.G.S. Bahiagrass. *In*: MOSER, L. E. *et al.* (ed.). **Warm-season (C4) grasses**. Madison: American Society of Agronomy, 2004. p. 651-680. (Agronomy Monograph, v. 45).

HANNA, W.W.; BASHAW, E.C. Apomixis: its identification and use in plant breeding. **Crop Science**, Madison, v. 27. p. 1136-1139, 1987.

HARLAN, J. R. The scope for collection and improvement of forage plants. *In*: McIVOR, J.G.; BRAY, R.A. (ed.) **Genetic resources of forage plants**. Melbourne: CSIRO, 1983. p. 3-14.

HORANDL, E. Species concepts in agamic complexes: applications in the *Ranunculus auricomus* complex and general perspectives. **Folia Geobotânica**, Praha, v. 33, p. 335-348, 1998.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Mapa de Biomas e de Vegetação**. Rio de Janeiro: IBGE, 2004. Disponível em: <https://ww2.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomashtml.shtm> Acesso em: 24 jan. 2019.

JANK, L. *et al.* The value of improvement pastures to Brazilian beef production. **Crop and Pasture Science**, Collingwood, v. 65, n. 11, p.1132-1137, 2014.

JUNQUEIRA FILHO, R. G. *et al.* Absence of microspore polarity, symmetric divisions and pollen cell fate in *Brachiaria decumbens* (Gramineae). **Genome**, Ottawa v. 46, n. 1, p. 83-86, 2003.

KAMINSKI, J. *et al.* Resposta de biótipos da grama forquilha à calagem e à frequência de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 4, p. 581-586, 1998.

KOLTUNOW, A. M. Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. **The Plant Cell**, Rockville, v. 5, n. 10, p. 1425-1437, 1993.

KRYCKI, K.C.; SIMIONI, C.; DALL'AGNOL, M. Cytoembryological evaluation, meiotic behavior and pollen viability of *Paspalum notatum* poliploidized plants. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v.16, n. 4, p. 282-288, 2016.

MACEDO, M.C.M. Integração lavoura e pecuária: o estado da arte e inovações tecnológicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, p.133-146, 2009.

MACHADO, J. M. *et al.* Agronomic evaluation of *Paspalum notatum* Flugge under the influence of photoperiod. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 46, n. 1, p. 8-12, 2017.

MARASCHIN, G.E. A planta forrageira no sistema de produção: gramas batatais, forquilha e bahiagrass. *In*: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 17., 2000, Piracicaba. **Anais [...]**. Piracicaba: FEALQ, 2000. p. 217-263.

MEDEIROS, R. B.; SAIBRO, J.C.; FOCHT, T. Invasão de capim-annoni (*Eragrostis plana* Nees) no bioma Pampa do Rio Grande do Sul. *In*: PILLAR, V.P. *et al.* (ed.). **Campos Sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade**. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2009. cap. 25, p. 317-330.

MORAES FERNANDES, M.I.B.; BARRETO, I.L.; SALZANO, F.M. Cytogenetic, ecologic and morphologic studies in Brazilian forms of *Paspalum notatum*. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ottawa, v. 15, n. 3, p. 523-531, 1973.

MORAES FERNANDES, M. I. B. **Genética e evolução do gênero *Paspalum* (Gramineae)**: contribuição ao estudo das espécies naturais do Rio Grande do Sul. 1971. 193 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1971.

MOTTA, E. A. M. *et al.* Valor forrageiro de híbridos interespecíficos superiores de *Paspalum*. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v.48. n.1, p. 191-198, 2017.

NABINGER, C.; MORAES, A.; MARASCHIN, G.E. Campos in southern Brazil. *In*: LEMAIRE, G. *et al.* (ed.). **Grassland ecophysiology and grazing ecology**. Wallingford: CABI, 2000. p. 355-376.

NABINGER, C. Manejo e produtividade das pastagens nativas do subtropico brasileiro. *In*: SIMPÓSIO DE FORRAGEIRAS E PRODUÇÃO ANIMAL, 1., 2006, Porto Alegre. **Anais [...]**. Canoas: ULBRA, 2006. p.25-75.

- NABINGER, C.; DALL'AGNOL, M. Principais gramíneas nativas do RS: características gerais, distribuição e potencial forrageiro. *In*: SIMPÓSIO DE FORRAGEIRAS E PRODUÇÃO ANIMAL, 3., 2008, Porto Alegre. **Anais** [...]. Porto Alegre: UFRGS, 2008. p. 7-54.
- NOGLER, G. A. How to obtain diploid apomitic *Ranunculus auricomus* plants not found in the wild state. **Botanica Helvetica**, Basel, v. 92, p. 13-22, 1982.
- NOVO, P.E. *et al.* Hybridization and heterosis in the Plicatula group of *Paspalum*. **Euphytica**, Wageningen, v. 213, p. 198-213, 2017.
- ORTIZ, J. P. A. *et al.* Harnessing apomitic reproduction in grasses: what we have learned from *Paspalum*. **Annals of Botany**, Oxford, v. 112, n. 5, p. 767-787, 2013.
- OVERBECK, G. E. *et al.* Brazil's neglected biome: the south brazilian Campos. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, Amsterdam, v. 9, n. 2, p. 101-116, 2007.
- PAGLIARINI, M. S.; POZZOBON, M. T. Meiose vegetal: um enfoque para a Caracterização de germoplasma. *In*: CURSO DE CITOGENÉTICA APLICADA A RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS, 2., 2004, Brasília. **Anais** [...]. Brasília: EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. p. 24-41.
- PAGLIARINI, M.S. *et al.* Cytogenetic characterization of Brazilian *Paspalum* acessions. **Hereditas**, Lund, v.135, n. 1, p. 27-34, 2001.
- PARODI, L. R. Gramineas del genero *Paspalum*. **Revista del Museo de la Plata**, Buenos Aires, v.1, n.14, p. 211-244, 1937.
- PEREIRA, E. A. *et al.* Agronomic performance and interspecific hybrids selection of the genus *Paspalum*. **Científica**, Jaboticabal, v. 43, n.4, p. 388-395, 2015.
- PESSIM, C. *et al.* Meiotic behavior in *Panicum maximum* Jacq. (Poaceae: Panicoideae: Paniceae): hybrids and their genitors. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 3, p. 417-422, 2010.
- PODIO, M. *et al.* Evaluation of meiotic abnormalities and pollen viability in aposporous and sexual tetraploid *Paspalum notatum* (Poaceae). **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 298, n. 9, p. 1625-1633, 2012.
- POLL, H. *et al.* (ed.). **Anuário brasileiro da pecuária**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 2013. 132 p.

POZZOBON, M.T; VALLS, J.M. Chromosome number in germplasm accessions of *Paspalum notatum* (Gramineae). **Brazilian Journal Genetics**, Ribeirão Preto, v. 20, n. 1, p. 29-34, 1997.

QUARÍN, C. L. A tetraploide cytotype of *Paspalum durifolium*: cytology, reproductive behavior and this relationship to diploid *P. intermedium*. **Hereditas**, Lund, v. 121, n. 2, p. 115-118, 1994.

QUARÍN, C. L. *et al.* A rise of ploidy level induces the expression of apomixis in *Paspalum notatum*. **Sexual Plant Reproduction**, Heidelberg, v. 13, n. 5, p. 243-249, 2001.

QUARÍN, C. L. *et al.* Registration of Q4188 and Q4205, Sexual Tetraploid Germoplasm of Bahiagrass. **Crop Science**, Madison, v. 43, n. 2, p. 745-746, 2003.

QUARÍN, C.L. The nature of apomixis and its origins in panicoid grasses. **Apomixis Newsletter**, Paris, v. 5, p 7-15, 1992.

RAMSEY, J.; SCHEMSKE, D. W. Pathways, mechanisms and rates of polyploid formation in flowering plants. **Annual Review of Ecology Evolution and Systematics**, Palo Alto, v. 29, p. 467-501, 1998.

REIS, C. A. O.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; DALL'AGNOL, M. Chromosome numbers, meiotic behavior and pollen fertility in a collection of *Paspalum nicorae* Parodi accessions. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 8, p. 212-218, 2008.

SAVISAN, Y. H. *et al.* Breeding *Panicum maximum* in Brazil. Genetic resources, modes of reproduction and breeding procedures. **Euphytica**, Dordrecht, v. 41, n. 1/2, p. 107-112, 1989.

RISSE-PASQUOTTO, C.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. Multiple spindle and cellularization during microsporogenesis in an artificial induced tetraploid accession of *Brachiaria ruziziensis* (Gramineae). **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 23, n. 9, p. 522-527, 2005.

ROSENGURT, B. **Tablas de comportamiento de las especies de plantas de campos naturales em el Uruguay**. Montevideo: Universidad de La Republica, 1979.

SIMIONI, C.; VALLE, C.B. Meiotic analysis in induced tetraploids of *Brachiaria decumbens* Stapf. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 11, n. 1, p. 43-49, 2011.

SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. **Trends in Ecology Evolution**, Amsterdam, v. 14, n. 9, p. 348-352, 1999.

STEBBINS, G.L. **Chromosomal evolution in higher plants**. London: University Park Press, 1971. 216 p.

STEINER, M. G. *et al.* Forage potential of native ecotypes of *Paspalum notatum* and *P. guenoarum*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.89, n.3, p. 1753-1760, 2017.

STRAPASSON, E.; VENCOSKY, R.; BATISTA, L.A.R. Seleção de descritores na caracterização de germoplasma de *Paspalum sp.* por meio de componentes principais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n. 2, p. 373-381, 2000.

SYBENGA, J. Manipulation of genome composition. B. Gene dose: duplication, polyploidy and gametic chromosome number. *In*: SYBENGA, J. **Citogenetics and plant breeding**. Berlin: Springer-Verlag, 1992. p. 327-371.

UNITED NATIONS. Department of Economic and Social Affairs. Population Division. **World population Prospects: the 2017 revision: key findings and advance tables**. New York: United Nations, 2017. (Working Paper, *AP/WP/248*). Disponível em: https://esa.un.org/unpd/wpp/Publications/Files/WPP2017_KeyFindings.pdf. Acesso em: 25 jan. 2019.

VALLE, C. B. *et al.* Seleção e melhoramento de plantas forrageiras. *In*: REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R. (ed.). **Forragicultura: ciência, tecnologia e uso dos recursos forrageiros**. Jaboticabal: Maria de Lourdes Brandel, 2013. p. 349-366.

VALLE, C. B.; SAVIDAN, Y. H. Genetics, cytogenetics and reproductive biology of *Brachiaria*. *In*: MILES, J. W.; MAASS, B. L.; VALLE, C. B. (ed.). **Brachiaria: biology, agronomy and improvement**. Brasília: EMBRAPA-CNPGC, 1996. p. 147-163.

VALLS, J. F. M. *et al.* Patrimônio florístico dos campos: potencialidades de uso e a conservação de seus recursos genéticos. *In*: PILLAR, V. P. *et al.* (ed.). **Campos sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade**. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2009. p. 139-154.

VALLS, J. F. M. Recursos genéticos de espécies de *Paspalum* no Brasil. *In*: ENCONTRO INTERNACIONAL SOBRE MELHORAMENTO GENÉTICO DE PASPALUM, 1987, Nova Odessa, SP. **Anais [...]**. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 1987. p. 3-13.

WEILER, R. L. *et al.* Chromosome doubling in *Paspalum notatum* var. saure (cultivar Pensacola). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 15, n. 2, p. 106-111, 2015.

WEILER, R. L. *et al.* Determination of mode of reproduction of Bahiagrass hybrids using cytoembryological analysis and molecular markers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 46, n. 3, p. 185-191, 2017.

WEILER, R. L. *et al.* Intraespecific tetraploid hybrids of *Paspalum notatum*: agronomic evaluation of segregation progeny. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 75, n. 1, p. 36-42, 2018.

6. VITA

Karine Cristina Krycki nasceu em Porto Alegre em 15 de setembro de 1983. Filha de Angela Cristina Kravczyk e Mario Krycki. Coursou o ensino fundamental na Escola Espírito Santo e na Escola Estadual no Bairro Jardim Lindóia. Frequentou o ensino médio na Escola Estadual Dom João Becker. Em 2006 ingressou na Faculdade de Agronomia/UFRGS, onde desenvolveu iniciação científica no Departamento de Plantas Forrageiras por três anos. Graduou-se Engenheira Agrônoma em 2012. Em março de 2015 concluiu o curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFRGS, área de concentração Plantas Forrageiras e em abril de 2015 ingressou no curso de doutorado da mesma área, sendo bolsista da CAPES durante o mestrado e o doutorado.

7. APÊNDICES

Apêndice 1. Normas para submissão de manuscritos de acordo com a revista científica ‘Crop Breeding and Applied Biotechnology’, utilizada para escrever o Capítulo II desta tese.

Instructions for authors

General policy and scope of the journal

The **CBAB – CROP BREEDING AND APPLIED BIOTECHNOLOGY** (<http://cbab.sbmp.org.br/>, eISSN 1984-7033) – is the official quarterly journal of the Brazilian Society of Plant Breeding (www.sbmp.org.br), abbreviated CROP BREED APPL BIOTECHNOL. It is indexed in ISI Thomson Reuters (Web of Science), Scopus, AGRIS, CAB International Abstracts, Biosys, Latindex, Periódica, Chemical Abstracts Service, Agricola, Agrobase, Wilson, Ebsco, ProQuest, DOAJ, Google Scholar, Acervo Documental da Embrapa, Portal da Capes and SciELO. 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. The journal adopts the Ithenticate software for identification of plagiarism. Complete or partial reproduction of articles is permitted, provided the source is cited. All content of the journal, except where identified, is licensed under a Creative Commons attribution-type BY. All articles are published free of charge. This is an open access journal.

Article

The **CBAB** publishes articles exclusively in English. The authors must submit their articles in English. It is mandatory that the article, after approval, be reviewed in linguistic terms, 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://cbab.sbmp.org.br/>, 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 double 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 status 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, References, Tables and Figures**. The manuscript must be typed in Word for Windows, in times new roman 12 font, 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, justified, with initial upper case letters. The **Authors'** complete names, and their institutional addresses should be entered later in the proof reading. The **Abstract** 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. 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. **References** cited 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:

Article in journals

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

Hallauer AR, Carena MJ and Miranda Filho JB (2010) **Quantitative genetics in maize breeding**. Springer, New York, 664p.

Book chapter

Morais PPP and Borem A (2017) GM cultivars. In Silva FL, Borem A, Sedyama T and Ludke WH (eds) **Soybean breeding**. Springer, New York, p. 174-189.

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.

Review

Leading authors of certain topics will be asked for a **Review** by the Editorial board (also restricted to 18 pages), which should shed light specifically on stirring subject matters that deserve a deeper analysis into their stage of development.

Note

Notes are limited to 12 pages and designated to inform about new studies or observations, wherefore the analytical tools are not required. They may focus

on a matter of broad interest; briefly describe an original study; report on participatory research; express observations of special interest in the fields of research, teaching, and applied sciences; or comment on the release of new software in a plant breeding-related area.

Plant breeding program

Outstanding breeding programs regarding innovation, efficiency, impact, and/or continuity can be portrayed in the **CBAB**, restricted to 18 pages.

Cultivar release

New cultivars deserve special attention for their key role in plant breeding, and consequently, for domestic agriculture. A contribution to this section should comprise an Abstract of maximally 50 words, Key words, an Introduction, mention the applied improvement methods, performance characteristics, foundation seed production, and contain a minimum of References (follow examples of articles references), Tables, and Figures. The entire text should not exceed 12 pages.

Software/Device release

New softwares and devices are going to be published in the Special section because of the importance they represent for the current improvement and, therefore, for agriculture. This new section must contains Abstracts limited to 50 words, Key words, introduction, methods, history used for the development of the manuscript, performance characteristics, applications, forms of access and a minimum of references, tables and figures. The entire manuscript will be limited to 12 pages.

Book review

This new section was created to announce new books related to plant breeding. A contribution to this section should comprise two copies of the book sent in by the Author. The book will be revised by an expertise referee chosen by the Editorial Board to edit a brief.

Viewpoint

At invitation of the Editorial board, viewpoints will be – as reviews – worked out for the **CBAB**, to outline topics which interest plant breeders and society.

Letters

Short letters of general interest are also welcome for publication, subject to changes by the Editorial Board for reasons of space limits or clearness of expression.

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

- CBAB is an open access journal
- All articles are published free of charge
- Submission and review of articles electronically via ScholarOne
- Quick publication: average time of 147 days, in 2017
- PDF articles freely available on the WEB
- Evaluation by renewed national and international reviewers of the Web of Science
- Application of iThenticate software against plagiarism
- All articles are published with DOI
- Broad visibility, with publication of articles exclusively in English since 2001

Apêndice 2. Normas para submissão de manuscritos de acordo com a revista científica ‘Anais da Academia Brasileira de Ciências’, utilizada para escrever o Capítulo III desta tese.

Objetivo e política editorial

A revista **ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS** encoraja fortemente as submissões online. Uma vez o artigo preparado de acordo com as instruções abaixo, visite o site de submissão online (<http://aabc.abc.org.br>).

As instruções devem ser lidas cuidadosamente e seguidas integralmente. Desta forma, a avaliação e publicação de seu artigo poderão ser feitas com mais eficiência e rapidez. Os editores reservam-se o direito de devolver artigos que não estejam de acordo com estas instruções. Os artigos devem ser escritos em inglês claro e conciso.

OBJETIVO E POLÍTICA EDITORIAL

Todos os artigos submetidos devem conter pesquisa original e ainda não publicada ou submetida para publicação. O primeiro critério para aceitação é a qualidade científica. O uso excessivo de abreviaturas ou jargões deve ser evitado, e os artigos devem ser compreensíveis para uma audiência tão vasta quanto possível. Atenção especial deve ser dada ao Abstract, Introdução e Discussão, que devem nitidamente chamar a atenção para a novidade e importância dos dados relatados. A não observância desta recomendação poderá resultar em demora na publicação ou na recusa do artigo.

Os textos podem ser publicados como uma revisão, um artigo ou como uma breve comunicação. A revista é trimestral, sendo publicada nos meses de março, junho, setembro e dezembro.

TIPOS DE TRABALHOS

Revisões. Revisões são publicadas somente a convite. Entretanto, uma revisão pode ser submetida na forma de breve carta ao Editor a qualquer tempo. A carta deve informar os tópicos e autores da revisão proposta e declarar a razão do interesse particular do assunto para a área.

Artigos. Sempre que possível, os artigos devem ser subdivididos nas seguintes partes: 1. Página de rosto; 2. Abstract (escrito em página separada, 200 palavras ou menos, sem abreviações); 3. Introdução; 4. Materiais e Métodos; 5. Resultados; 6. Discussão; 7. Agradecimentos quando necessário; 8. Resumo e palavras-chave (em português - os autores estrangeiros receberão assistência); 9. Referências. Artigos de algumas áreas, como Ciências Matemáticas, devem observar seu formato usual. Em certos casos

pode ser aconselhável omitir a parte (4) e reunir as partes (5) e (6). Onde se aplicar, a parte de Materiais e Métodos deve indicar o Comitê de Ética que avaliou os procedimentos para estudos em humanos ou as normas seguidas para a manutenção e os tratamentos experimentais em animais.

Breves comunicações

Breves comunicações devem ser enviadas em espaço duplo. Depois da aprovação não serão permitidas alterações no artigo, a fim de que somente correções de erros tipográficos sejam feitos nas provas. Os autores devem enviar seus artigos somente em versão eletrônica.

Preparação de originais

PREPARO DOS ARTIGOS

Os artigos devem ser preparados em espaço duplo. Depois de aceitos nenhuma modificação será realizada, para que nas provas haja somente correção de erros tipográficos.

Tamanho dos artigos. Embora os artigos possam ter o tamanho necessário para a apresentação concisa e discussão dos dados, artigos sucintos e cuidadosamente preparados têm preferência tanto em termos de impacto quando na sua facilidade de leitura.

Tabelas e ilustrações. Somente ilustrações de alta qualidade serão aceitas. Todas as ilustrações serão consideradas como figuras, inclusive desenhos, gráficos, mapas, fotografias e tabelas com mais de 12 colunas ou mais de 24 linhas (máximo de figuras gratuitas: cinco figuras). A localização provável das figuras no artigo deve ser indicada.

Figuras digitalizadas. As figuras devem ser enviadas de acordo com as seguintes especificações: 1. Desenhos e ilustrações devem ser em formato .PS/.EPS ou .CDR (Postscript ou Corel Draw) e nunca inseridas no texto; 2. Imagens ou figuras em meio tom devem ser no formato .TIF e nunca inseridas no texto; 3. Cada figura deve ser enviada em arquivo separado; 4. Em princípio, as figuras devem ser submetidas no tamanho em que devem aparecer na revista, i.e., largura de 8 cm (uma coluna) ou 12,6 cm (duas colunas) e com altura máxima para cada figura menor ou igual a 22 cm. As legendas das figuras devem ser enviadas em espaço duplo e em folha separada. Cada dimensão linear das menores letras e símbolos não deve ser menor que 2 mm depois da redução. Somente figuras em preto e branco serão aceitas. 5. Artigos de Matemática, Física ou Química podem ser digitados em Tex, AMS-Tex ou Latex; 6. Artigos sem fórmulas matemáticas podem ser enviados em .RTF ou em WORD para Windows.

Página de rosto. A página de rosto deve conter os seguintes itens: 1. Título do artigo (o título deve ser curto, específico e informativo); 2. Nome (s) completo

(s) do (s) autor (es); 3. Endereço profissional de cada autor; 4. Palavras-chave (4 a 6 palavras, em ordem alfabética); 5. Título abreviado (até 50 letras); 6. Seção da Academia na qual se enquadra o artigo; 7. Indicação do nome, endereço, números de fax, telefone e endereço eletrônico do autor a quem deve ser endereçada toda correspondência e prova do artigo.

Agradecimentos. Devem ser inseridos no final do texto. Agradecimentos pessoais devem preceder os agradecimentos a instituições ou agências. Notas de rodapé devem ser evitadas; quando necessário, devem ser numeradas. Agradecimentos a auxílios ou bolsas, assim como agradecimentos à colaboração de colegas, bem como menção à origem de um artigo (e.g. teses) devem ser indicados nesta seção.

Abreviaturas. As abreviaturas devem ser definidas em sua primeira ocorrência no texto, exceto no caso de abreviaturas padrão e oficial. Unidades e seus símbolos devem estar de acordo com os aprovados pela ABNT ou pelo Bureau International des Poids et Mesures (SI).

Referências. Os autores são responsáveis pela exatidão das referências. Artigos publicados e aceitos para publicação (no prelo) podem ser incluídos. Comunicações pessoais devem ser autorizadas por escrito pelas pessoas envolvidas. Referências a teses, abstracts de reuniões, simpósios (não publicados em revistas indexadas) e artigos em preparo ou submetidos mas ainda não aceitos, podem ser citados no texto como (Smith *et al.* unpublished data) e não devem ser incluídos na lista de referências.

As referências devem ser citadas no texto como, por exemplo, (Smith 2004), (Smith and Wesson 2005) ou, para três ou mais autores, (Smith *et al.* 2006). Dois ou mais artigos do mesmo autor no mesmo ano devem ser distinguidos por letras, e.g. (Smith 2004a), (Smith 2004b) etc. Artigos com três ou mais autores com o mesmo primeiro autor e ano de publicação também devem ser distinguidos por letras.

As referências devem ser listadas em ordem alfabética do primeiro autor sempre na ordem do sobrenome XY no qual X e Y são as iniciais. Se houver mais de 10 autores, use o primeiro seguido de *et al.* As referências devem ter o nome do artigo. Os nomes das revistas devem ser abreviados. Para as abreviações corretas, consultar a listagem de base de dados na qual a revista é indexada ou consulte a World List of Scientific Periodicals. A abreviatura para os Anais da Academia Brasileira de Ciências é An Acad Bras Cienc. Os seguintes exemplos são considerados como guia geral para as referências.

Artigos

ALBE-FESSARD D, CONDES-LARA M, SANDERSON P AND LEVANTE A. 1984a. Tentative explanation of the special role played by the áreas of paleospinothalamic projection in patients with deafferentation pain syndromes. Adv Pain Res Ther 6: 167-182.

ALBE-FESSARD D, SANDERSON P, CONDES-LARA M, DELANDSHEER E, GIUFFRIDA R AND CESARO P. 1984b. Utilisation de la depression envahissante de Leão pour l'étude de relations entre structures centrales. An Acad Bras Cienc 56: 371-383.

KNOWLES RG AND MONCADA S. 1994. Nitric oxide synthases in mammals. Biochem J 298: 249-258.

PINTO ID AND SANGUINETTI YT. 1984. Mesozoic Ostracode Genus Theriosynoecum Branson, 1936 and validity of related Genera. An Acad Bras Cienc 56: 207-215.

Livros e Capítulos de Livros

DAVIES M. 1947. An outline of the development of Science, Athinker's Library, n. 120. London: Watts, 214 p.

PREHN RT. 1964. Role of immunity in biology of cancer. In: NATIONAL CANCER CONFERENCE, 5, Philadelphia Proceedings, Philadelphia: J.B. Lippincott, p. 97-104.

UYTENBOGAARDT W AND BURKE EAJ. 1971. Tables for microscopic identification of minerals, 2nd ed., Amsterdam: Elsevier, 430 p.

WOODY RW. 1974. Studies of theoretical circular dichroism of Polipeptides: contributions of B-turns. In: BLOUTS ER ET AL. (Eds), Peptides, polypeptides and proteins, New York: J Wiley & Sons, New York, USA, p. 338-350.

Outras Publicações

INTERNATIONAL KIMBERLITE CONFERENCE, 5, 1991. Araxá, Brazil. Proceedings ... Rio de Janeiro: CPRM, 1994, 495 p.

SIATYCKI J. 1985. Dynamics of Classical Fields. University of Calgary, Department of Mathematics and Statistics, 55 p. Preprint n. 600.