

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

DIÓGENES CECCHIN SILVEIRA  
Engenheiro Agrônomo/UNICRUZ  
Mestre em Agronomia/UPF

**BIOMETRIA APLICADA AO MELHORAMENTO GENÉTICO EM ESPÉCIES DO  
GÊNERO *Paspalum***

Porto Alegre (RS), Brasil  
Novembro de 2023

DIÓGENES CECCHIN SILVEIRA

**BIOMETRIA APLICADA AO MELHORAMENTO GENÉTICO EM ESPÉCIES DO  
GÊNERO *Paspalum***

Tese apresentada como requisito para  
obtenção do Grau de Doutor em  
Zootecnia, no Programa de Pós  
Graduação em Zootecnia, da  
Universidade Federal do Rio Grande  
do Sul

**Orientador:** Miguel Dall'Agnol

Porto Alegre (RS), Brasil  
Novembro de 2023

CIP - Catalogação na Publicação

Silveira, Diógenes Cecchin  
BIOMETRIA APLICADA AO MELHORAMENTO GENÉTICO EM  
ESPÉCIES DO GÊNERO Paspalum / Diógenes Cecchin  
Silveira. -- 2023.  
335 f.  
Orientador: Miguel Dall'Agnol.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

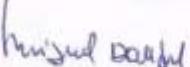
1. P. Lepton. 2. P. notatum. 3. rendimento de  
sementes. 4. rendimento de forragem. 5. qualidade  
fisiológica. I. Dall'Agnol, Miguel, orient. II.  
Título.

Diógenes Cecchin Silveira  
Mestre em Agronomia

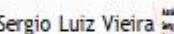
TESE

Submetida como parte dos requisitos  
para obtenção do Grau de  
**DOUTOR EM ZOOTECNIA**  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Faculdade de Agronomia  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovada em: 06.11.2023  
Pela Banca Examinadora

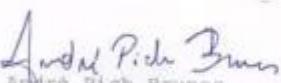
  
Miguel Dall'Agnol  
PPG Zootecnia/UFRGS  
Orientador

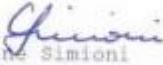
Homologado em: 09/11/2023  
Por

 Sérgio Luiz Vieira

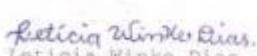
Assinatura é feita digitalmente  
Data da assinatura:  
Data: 09/11/2023 Hora: 17:00:00

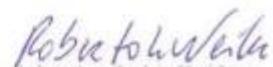
SÉRGIO LUIZ VIEIRA  
Coordenador do Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia

  
André Pich Brunes  
PPG Zootecnia/UFRGS

  
Carine Simioni  
UFRGS

  
Mauricio Marini Kopp  
EMBRAPA

  
Letícia Winke Dias  
Pós-Doc/UFRGS

  
Roberto Luis Weiler  
PPG Zootecnia/UFRGS

Documento assinado digitalmente



CARLOS ALBERTO BISSANT  
Data: 17/11/2023 08:52:17-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

CARLOS ALBERTO BISSANT  
Diretor da Faculdade de Agronomia

Como Freud observou certa vez, Copérnico demonstrou que a terra não é o centro do universo, Darwin, que nós não estamos no centro da vida, e ele, Freud, que nós não estamos nem mesmo no controle de nossas próprias mentes.

(Edward Osborne Wilson)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço profundamente a todos que contribuíram para este trabalho.

# **BIOMETRIA APLICADA AO MELHORAMENTO GENÉTICO EM ESPÉCIES DO GÊNERO *Paspalum*<sup>1</sup>**

**Autor:** Diógenes Cecchin Silveira

**Orientador:** Miguel Dall'Agnol

**Resumo:** O gênero *Paspalum* é notável por sua diversidade de espécies, com destaque para *P. notatum* e *P. lepton* com potencial na produção de forragem, adaptabilidade a diversas condições de clima e solo e capacidade de suportar o pastejo. O objetivo deste estudo foi aplicar técnicas biométricas para o melhoramento, com foco na produção de forragem, rendimento de sementes, qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes. Foram analisadas duas populações de híbridos de *P. notatum* e uma de ecótipos de *P. lepton*. Há uma ampla variabilidade genética, especialmente na primeira população obtida. Em *P. notatum*, os híbridos 336, 332, 437, 132 e o genitor masculino '30N' têm potencial para o aumento da produção de matéria seca. Esses podem ser selecionados a partir de diferentes grupos genéticos para maximizar a variabilidade e a heterose, e incluídos em cruzamentos dialélicos. A altura das plantas é um caractere importante para a seleção e o uso de REML/BLUP se mostrou uma ferramenta robusta para análise de dados. Em outro grupo de híbridos, D3, D16, C17, C2 e B17 foram superiores para produção de forragem, podendo avançar nos programas de melhoramento. A análise de repetibilidade indicou que vários caracteres apresentam coeficientes de repetibilidade elevados; em geral, cinco colheitas são adequadas para seleção precoce, favorecendo a seleção direta para aumentar a produção de forragem. Em *P. lepton*, o rendimento de sementes puras foi positivamente relacionado ao rendimento de sementes aparentes, número de sementes por inflorescência, densidade de perfilhos vegetativos, número de sementes por racemo e peso de mil sementes. A incidência de *Claviceps paspali* teve impacto negativo na qualidade fisiológica destas. A análise de correlações canônicas e análise de trilha destacaram algumas características das sementes como principais determinantes do rendimento. Com esses dados, é possível selecionar híbridos promissores, utilizar a análise de repetibilidade para direcionar a seleção, selecionar caracteres-chave para a produção de forragem e a importância da qualidade e rendimento de sementes em *P. lepton*. Essas conclusões contribuem para o avanço do conhecimento e o aprimoramento genético dessas espécies, proporcionando orientações valiosas para futuros programas de melhoramento.

**Palavras-chave:** Análise de trilha, análise multivariada, BLUP, correlação genética, *P. Lepton*, *P. notatum*, qualidade física, qualidade fisiológica, qualidade sanitária, REML, rendimento de sementes, rendimento forrageiro, repetibilidade.

---

<sup>1</sup> Tese de Doutorado em Zootecnia – Plantas Forrageiras, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (300 p.) Dezembro, 2022.

# BIOMETRY APPLIED TO GENETIC IMPROVEMENT IN SPECIES OF THE GENUS *Paspalum*<sup>2</sup>

**Author:** Diógenes Cecchin Silveira

**Advisor:** Miguel Dall'Agnol

**Abstract:** The genus *Paspalum* is notable for its diversity of species, with emphasis on *P. Notatum* and *P. lepton* with potential in forage production, adaptability to different climate and soil conditions and ability to support grazing. The objective of this study was to apply biometric techniques for breeding, focusing on forage production, seed yield, physical, physiological and sanitary quality in seeds. Two populations of *P. Notatum* hybrids and one of *P. lepton* ecotypes were analyzed. There is wide genetic variability, especially in the first population obtained. In *P. Notatum*, hybrids 336, 332, 437, 132 and the male parent '30N' have the potential to increase dry matter production. These can be selected from different genetic groups to maximize variability and heterosis, and included in diallel crosses. Plant height is an important character for selection and the use of REML/BLUP proved to be a robust tool for data analysis. In another group of hybrids, D3, D16, C17, C2 and B17 were superior for forage production and could advance breeding programs. The repeatability analysis indicated that several characters have high repeatability coefficients; In general, five cuts are suitable for early selection, favoring direct selection to increase forage production. In *P. lepton*, pure seed yield was positively related to apparent seed yield, number of seeds per inflorescence, density of vegetative tillers, number of seeds per raceme and weight of one thousand seeds. The incidence of *Claviceps paspali* had a negative impact on their physiological quality. The analysis of canonical correlations and path analysis highlighted some seed characteristics as main determinants of yield. With these data, it is possible to select promising hybrids, use repeatability analysis to direct selection, select key characters for forage production and the importance of seed quality and yield in *P. lepton*. These conclusions contribute to the advancement of knowledge and genetic improvement of these species, providing valuable guidance for future breeding programs.

**Key words:** BLUP, forage yield, genetic correlation, multivariate analysis, *P. lepton*, *P. Notatum*, path analysis, physical quality, physiological quality, REML, repeatability, sanitary quality, seed yield.

---

<sup>2</sup> Doctoral thesis in Forage Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (300 p.) Dezembro, 2022

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| CAPÍTULO I .....  | 11 |
| 1. Introdução.....  | 12 |
| 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....  | 17 |
| 1.1. Gênero <i>Paspalum</i> .....   | 17 |
| 1.2. <i>Paspalum notatum</i> Flügge .....   | 22 |
| 1.3. <i>Paspalum lepton</i> (ex <i>P. nicorae</i> ) .....   | 23 |
| 1.4. Produção de sementes forrageiras .....   | 28 |
| 1.5. Caracterização e avaliação de germoplasma .....  | 30 |
| 1.6. Diversidade Genética.....  | 33 |
| 1.7. Estimação da diversidade genética.....   | 34 |
| 1.8. Análise de agrupamento (AA) .....  | 38 |
| 1.9. Análise de componentes principais (PCA) e variáveis canônicas (AVC) ....   | 40 |
| 1.10. Associações entre caracteres .....  | 42 |
| 1.11. Análise de trilha.....  | 47 |
| 1.12. Coeficiente de repetibilidade ( $p$ ).....  | 49 |
| 1.13. Máxima verossimilhança restrita (REML) e o melhor preditor linear não viesado (BLUP) .....  | 54 |
| 1.14. Componentes de variância e predição de parâmetros genéticos.....  | 56 |
| 1.15. HIPÓTESES E OBJETIVOS .....   | 60 |
| Hipóteses .....   | 60 |
| 2. CAPÍTULO II <sup>1</sup> .....   | 61 |
| Genetic Parameters, Prediction of Gains and Intraspecific Hybrid Selection of <i>Paspalum notatum</i> Flügge for Forage Using REML/BLUP ..... | 61 |
| Abstract:.....  | 61 |
| 2.1. Introduction .....   | 62 |

|        |   |     |
|--------|---|-----|
| 2.2.   | Material and methods .....  | 63  |
| 2.3.   | Results.....  | 66  |
| 2.4.   | Discussion .....  | 69  |
| 2.5.   | Conclusion .....  | 70  |
| 2.6.   | References .....  | 71  |
| 3.     | CAPÍTULO III <sup>2</sup> .....   | 75  |
|        | REML/BLUP methodology for selection intraspecific hybrids of <i>Paspalum notatum</i> Flügge by multivariate analysis..... | 75  |
|        | ABSTRACT .....  | 76  |
| 3.1.   | INTRODUCTION.....   | 77  |
| 3.2.   | MATERIAL AND METHODS.....   | 79  |
| 3.3.   | RESULTS.....  | 85  |
| 3.4.   | DISCUSSION.....   | 88  |
| 3.5.   | REFERENCES.....   | 94  |
| 4.     | CAPÍTULO IV <sup>3</sup> .....  | 116 |
|        | Repeatability and genotypic stability in intraspecific hybrids of <i>Paspalum notatum</i> Flügge .....                    | 117 |
| 4.1.   | Introduction .....  | 118 |
| 4.2.   | Material and methods.....   | 119 |
| 4.2.1. | Experimental site .....   | 119 |
| 4.2.2. | Plant material and experimental design .....  | 120 |
| 4.2.3. | Procedures and traits .....   | 121 |
| 4.2.4. | Statistical analysis .....  | 122 |
| 4.3.   | Results .....   | 125 |
| 4.4.   | Discussion.....   | 127 |
| 4.5.   | Conclusion .....  | 131 |
| 4.6.   | References .....  | 131 |

|  |     |
|--|-----|
| 5. CAPÍTULO V .....  | 149 |
| Correlação e análise de trilha com base em BLUP multicaracteres como critério de seleção para forragem .....                           | 150 |
| Correlation and path analysis based on multi-trait BLUP as a selection criterion for forage .....                                      | 151 |
| 5.1. Introdução .....  | 152 |
| 5.2. Material e métodos.....   | 153 |
| 5.2.1. Local e período da pesquisa .....   | 153 |
| 5.2.2. Ecótipos avaliados .....  | 155 |
| 5.2.3. Delineamento experimental.....  | 159 |
| 5.2.4. Procedimentos .....   | 159 |
| 5.2.5. Caracteres avaliados.....   | 160 |
| 5.2.6. Análise estatística .....   | 161 |
| 5.3. Resultados .....  | 164 |
| 5.4. Discussão.....  | 167 |
| 5.5. Conclusão .....   | 169 |
| 5.6. Referências .....   | 169 |
| 6. CAPÍTULO VI .....   | 174 |
| Correlações como critério de seleção para produção e qualidade de sementes em ecótipos <i>Paspalum lepton</i> via modelos mistos ..... | 175 |
| Correlations as selection criteria for seed production and quality in <i>Paspalum lepton</i> ecotypes via mixed models .....           | 176 |
| 6.1. Introdução .....  | 177 |
| 6.2. Material e métodos.....   | 178 |
| 6.2.1. Local e período da pesquisa .....   | 178 |
| 6.2.2. Ecótipos avaliados .....  | 179 |
| 6.2.3. Delineamento experimental.....  | 184 |
| 6.2.4. Procedimentos .....   | 184 |

|  |            |
|--|------------|
| 6.2.5. Caracteres avaliados.....   | 185        |
| 6.2.6. Análise estatística .....   | 188        |
| 6.3. Resultados .....  | 191        |
| 6.4. Discussão.....  | 198        |
| 6.5. Conclusão .....   | 201        |
| 6.6. Referências .....   | 202        |
| <b>7. CAPÍTULO VII .....</b>   | <b>207</b> |
| Repetibilidade, variabilidade e importância de caracteres forrageiros em ecótipos <i>Paspalum lepton</i> via BLUP.....   | 208        |
| Repeatability, variability and importance of forage traits in <i>Paspalum lepton</i> ecotypes via BLUP.....  | 210        |
| 7.1. Introdução .....  | 211        |
| 7.2. Material e métodos.....   | 212        |
| 7.2.1. Local e período da pesquisa .....   | 212        |
| 7.2.2. Ecótipos avaliados .....  | 213        |
| 7.2.3. Delineamento experimental.....  | 218        |
| 7.2.4. Procedimentos .....   | 218        |
| 7.2.5. Caracteres avaliados.....   | 219        |
| 7.2.6. Análise estatística .....   | 220        |
| 7.3. Resultados .....  | 225        |
| 7.4. Discussão.....  | 233        |
| 7.5. Conclusão .....   | 238        |
| 7.6. Referências .....   | 238        |
| <b>8. CAPÍTULO VIII .....</b>  | <b>244</b> |
| Repetibilidade, importância de caracteres de rendimento e qualidade de sementes e variabilidade genética em ecótipos <i>Paspalum lepton</i> via modelos mistos ..... | 245        |
| Repeatability, importance of yield and seed quality traits and genetic variability in <i>Paspalum lepton</i> ecotypes via mixed models.....                          | 246        |

|        |                                   |     |
|--------|-----------------------------------|-----|
| 8.1.   | Introdução .....                  | 247 |
| 8.2.   | Material e métodos.....           | 248 |
| 8.2.1. | Local e período da pesquisa ..... | 248 |
| 8.2.2. | Ecótipos avaliados .....          | 249 |
| 8.2.3. | Delineamento experimental.....    | 254 |
| 8.2.4. | Procedimentos .....               | 254 |
| 8.2.5. | Caracteres avaliados.....         | 256 |
| 8.2.6. | Análise estatística .....         | 259 |
| 8.3.   | Resultados .....                  | 263 |
| 8.4.   | Discussão.....                    | 278 |
| 8.5.   | Conclusão .....                   | 281 |
| 8.6.   | Referências .....                 | 282 |
| 9.     | CONSIDERAÇÕES FINAIS.....         | 287 |
| 10.    | REFERÊNCIAS.....                  | 289 |
| 11.    | VITA .....                        | 317 |

## LISTA DE TABELAS

### **CAPÍTULO I**

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1. Rebanho estimado e participação dos Estados na produção total bovina no Brasil.....                                  | 13 |
| Tabela 2. Sistema de reprodução no gênero <i>Paspalum</i> .....  | 19 |
| Tabela 3. Cultivares de <i>Paspalum lepton</i> , origem da coleta, local, país e ano de lançamento e suas características..... | 26 |

### **CAPÍTULO II**

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1. Identification of male ( $\delta$ 4n) and female ( $\varphi$ 4n) parents used to develop intraspecific hybrids of <i>Paspalum notatum</i> .....   | 63 |
| Tabela 2. Verisimilitude values (LRT) of deviance analysis (ANADEV) and estimates of genetic parameters (individual REML) for characteristics quantified for intraspecific hybrids of <i>P. notatum</i> Flügge..... | 66 |
| Tabela 3. Predicted genotypic effect (g), genotypic value (u + g), genetic gains (gain) and new average ( $X_{new}$ ) for characteristics studied in intraspecific hybrids of <i>P. notatum</i> Flügge.....         | 67 |
| Table 4. Composition of groups formed by the Tocher optimization method for evaluated intraspecific hybrids of <i>P. notatum</i> Flügge, based on the average genetic Euclidean distance matrix.....                | 68 |

### **CAPÍTULO III**

|   |     |
|---|-----|
| Table 1. Comparison of average monthly minimum (min) and maximum (max) temperature ( $^{\circ}\text{C}$ ) and rainfall (mm) during the experimental period (December 2010-March 2012) with the 40-yr average (1970-2009). ....              | 106 |
| Table 2. Female and male tetraploid parents and hybrids of <i>Paspalum notatum</i> evaluated.....   | 106 |
| Table 3. Analysis of deviance of forages traits in 195 <i>Paspalum notatum</i> intraspecific hybrids.....   | 107 |
| Table 4. Principle components (PC), estimates of variances (eigenvalue $\lambda_j$ ), percentage of variance explained by components (importance %) and accumulated variance (% accumulated) of accessions of <i>Paspalum notatum</i> ..... | 108 |

|   |     |
|---|-----|
| Table 5. Group composition based on Mahalanobis genetic ( $D^2$ ) distance matrix using original Tocher optimization methods in <i>Paspalum notatum</i> ..... | 109 |
| Table 6. Estimates predicted genetic gain (BLUP) for forage traits in <i>P. notatum</i> hybrids based on average performance of years of experiment.....      | 110 |

## CAPÍTULO IV

|   |     |
|---|-----|
| Table 1. Female ( $\text{♀}$ 4x; $n=3$ ), male ( $\text{♂}$ 4x; $n=2$ ) parents and hybrids ( $n=189$ ) of <i>Paspalum notatum</i> Flügge evaluated. The commercially available cultivar 'Pensacola' was included as a control. (Total lines evaluated $n=195$ ).....   | 142 |
| Table 2. Summary of analysis of variance for forage traits in 195 genotypes of <i>Paspalum notatum</i> Flügge for leaf dry matter (LDM); stem dry matter (SDM); leaf:stem ratio (LSR); inflorescence dry matter (IDM); total dry matter (TDM); tiller population density per plant (TPD); plant height (PH) and growth habit (GH).....  | 143 |
| Table 3. Estimates of the repeatability coefficient ( $\rho$ ) and their respective determination coefficients ( $R^2$ ) derived from different analysis methods for leaf dry matter (LDM); stem dry matter (SDM); leaf:stem ratio (LSR); inflorescence dry matter (IDM); total dry matter (TDM); tiller population density per plant (TPD); plant height (PH) and growth habit (GH) measured in 195 genotypes of <i>Paspalum notatum</i> Flügge.....                                 | 144 |
| Table 4. Minimum number of measurements required by different analysis methods to identify superior hybrids for leaf dry matter (LDM); stem dry matter (SDM); leaf:stem ratio (LSR); inflorescence dry matter (IDM); total dry matter (TDM); tiller population density per plant (TPD); plant height (PH) and growth habit (GH) in 195 hybrids of <i>Paspalum notatum</i> Flügge. ....  | 145 |
| Table 5. Coefficient of repeatability ( $\rho$ ) and determination coefficients ( $R^2$ ) for comparisons of harvest times generated by ANOVA II and PCACor analysis methods to evaluate genotypic stability of leaf dry matter (LDM); stem dry matter (SDM); leaf:stem ratio (LSR); inflorescence dry matter (IDM); total dry matter (TDM); tiller population density per plant (TPD); plant height (PH) and growth habit (GH) in 195 hybrids of <i>Paspalum notatum</i> Flügge..... | 147 |

## CAPÍTULO V

|  |     |
|--|-----|
| Tabela 1. Identificação dos ecótipos de <i>P. lepton</i> , longitude e latitude, zona fisiográfica e classe de solo..... | 156 |
| Tabela 2. Atributos químicos do solo (0-20 m) durante o período experimental. ...  | 159 |

Tabela 3. Estimativas dos efeitos diretos e indiretos, que envolveram o principal caractere dependente da produtividade de forragem (MS) e os caracteres explicativos independentes por meio de análise de trilha com ecótipos de *Paspalum lepton* ....167

## CAPÍTULO VI

|  |     |
|--|-----|
| Tabela 1. Identificação dos ecótipos de <i>P. lepton</i> , longitude e latitude, zona fisiográfica e classe de solo.....   | 181 |
| Tabela 2. Atributos químicos do solo (0-20 m) durante o período experimental. ....   | 184 |
| Tabela 3. Estimativas de correlações e pares canônicos entre caracteres associados a qualidade fisiológica de sementes (Grupo I) e rendimento de sementes (Grupo II)<br>.....                                      | 194 |
| Tabela 4. Estimativas dos efeitos diretos e indiretos genotípicos dos caracteres secundários sobre o rendimento de sementes puras (RSP) por meio de análise de trilha com ecótipos de <i>Paspalum lepton</i> ..... | 197 |

## CAPÍTULO VII

|  |     |
|--|-----|
| Tabela 1. Identificação dos ecótipos de <i>P. lepton</i> , longitude e latitude, zona fisiográfica e classe de solo.....   | 215 |
| Tabela 2. Atributos químicos do solo (0-20 m) durante o período experimental. ....   | 218 |
| Tabela 3. Estimativa dos coeficientes de repetibilidade ( $\rho$ ) e do coeficiente de determinação ( $R^2$ , %) via diferentes métodos para caracteres de produção forrageira em ecótipos de <i>Paspalum lepton</i> .....   | 227 |
| Tabela 4. Composição de grupos formados pelos métodos de otimização original e sequencial de Tocher em ecótipos de <i>P. lepton</i> , base na matriz de distâncias genéticas de Mahalanobis ( $D_{ii}^2$ ). ....   | 230 |
| Tabela 5. Componentes principais (PC), estimativas das variâncias (autovalor $\lambda_j$ ), porcentagem da variância explicada pelos componentes (importância %), variância acumulada (%) e contribuição relativa dos caracteres forrageiros para divergência genética entre 84 ecótipos de <i>P. lepton</i> ..... | 233 |

## CAPÍTULO VIII

|  |     |
|--|-----|
| Tabela 1. Identificação dos ecótipos de <i>P. lepton</i> , longitude e latitude, zona fisiográfica e classe de solo..... | 251 |
| Tabela 2. Atributos químicos do solo (0-20 m) durante o período experimental. ....                                       | 254 |

|  |     |
|--|-----|
| Tabela 3. Estimativa dos coeficientes de repetibilidade ( $\rho$ ) e do coeficiente de determinação ( $R^2$ , %) via diferentes métodos para caracteres de produção e qualidade de sementes em ecótipos de <i>Paspalum lepton</i> .....  | 266 |
| Tabela 4. Estimativas do número mínimo de medições ( $\eta$ ) para determinados coeficientes de determinação ( $R^2$ ) via diferentes métodos de análise para selecionar ecótipos superiores com base em caracteres de produção e qualidade de sementes em ecótipos de <i>Paspalum lepton</i> .....                | 269 |
| Tabela 5. Composição de grupos formados pelos métodos de otimização original e sequencial de Tocher em ecótipos de <i>P. lepton</i> , base na matriz de distâncias genéticas de Mahalanobis ( $D_{ii}'^2$ ).....   | 274 |
| Tabela 6- Componentes principais (PC), estimativas das variâncias (autovalor $\lambda_j$ ), porcentagem da variância explicada pelos componentes (importância %), variância acumulada (%) e contribuição relativa dos caracteres de sementes para divergência genética entre 84 ecótipos de <i>P. lepton</i> ..... | 277 |

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

|  |    |
|--|----|
| Figura 1. Distribuição do bioma Pampa e Mata Atlântica no Estado do Rio Grande do Sul..... | 15 |
| Figura 2. Rizomas de <i>P. lepton</i> e touceira aos dois anos de cultivo. ....            | 25 |

### CAPÍTULO II

|  |    |
|--|----|
| Figure 1. Phases of intraspecific crossing in <i>Paspalum notatum</i> . (a) Male parent and pollen collected; (b) female inflorescence pollinated after emasculation.....  | 64 |
| Figure 2. Dendrogram of genetic dissimilarity among 74 intraspecific hybrids and eight parents of <i>P. notatum</i> Flügge, obtained by the UPGMA method, based on the average genetic Euclidean distance matrix considering the yield and morphological characteristics evaluated. Cophenetic correlation index = 0.76. Group I (blue); Group II (light blue); Group III (orange); Group IV (purple); Group V (light purple); Group VI (green); Group VII (orange); Group VIII (light green); Group IX (red) and Group X (light red)..... | 69 |

### CAPÍTULO III

|  |     |
|--|-----|
| Figure 1. Decomposition of variance components for mixed model of forage characters. $\sigma_e^2$ : environmental variance; $\sigma_{gm}^2$ : variance of genotypes x measurements interaction; $\sigma_{perm}^2$ : permanent ambient variance; $\sigma_g^2$ : genotypic variance. LDM: Leaves dry mass; SDM: stem dry mass; LSR: leaf: stem ratio; IDM: inflorescence dry mass; TDM: total dry mass; TPD: tiller population density; PH: plant height; GH: Growth habit.....  | 112 |
| Figure 2. Estimation of variance components and genetic parameters for forage traits in intraspecific hybrids of <i>Paspalum notatum</i> . $H^2$ : individual plot heritability in the broad sense, of total genotypic effects; $p$ : repeatability at the plot level; Cperm2 = coefficient of determination of plot effects; Cgm2 = coefficient for determining the effects of the genotype x measurement interaction; rgmed = genotypic correlation through measurements; hmg2 = genotype mean heritability. LDM: Leaves dry mass; SDM: stem dry mass; LSR: leaf: stem ratio; IDM: inflorescence dry mass; TDM: total dry mass; TPD: tiller population density; PH: plant height; GH: Growth habit. .... | 113 |

|   |     |
|---|-----|
| Figure 3. Genotypic correlation between eight forages traits of 195 <i>Paspalum notatum</i> intraspecific hybrids. LDM: Leaves dry mass; SDM: stem dry mass; LSR: leaf: steam ratio; IDM: inflorescence dry mass; TDM: total dry mass; TPD: tiller population density; PH: plant height; GH: Growth habit. ....   | 113 |
| Figure 4. Relative contribution of forage traits to the genetic diversity in 195 <i>Paspalum notatum</i> intraspecific hybrids, based on the Mahalanobis ( $D^2$ ) genetic distance. LDM: Leaves dry mass; SDM: stem dry mass; LSR: leaf: steam ratio; IDM: inflorescence dry mass; TDM: total dry mass; TPD: tiller population density; PH: plant height; GH: Growth habit. .... | 114 |
| Figure 5. Dendrogram of genetic dissimilarity among hybrids of <i>P. notatum</i> , obtained by the UPGMA method, based on the Mahalanobis ( $D^2$ ) genetic distance matrix...115   |     |

## CAPÍTULO IV

|  |     |
|--|-----|
| Figure 1. Total monthly rainfall (mm; bars) and mean monthly air temperature (°C; lines) during the experimental period. Black lines and bars are the 40-yr mean (1970-2010). .... | 141 |
|--|-----|

## CAPÍTULO V

|   |     |
|---|-----|
| Figura 1. Dados climáticos de precipitação (mm) em barras (esquerda) e temperatura média (°C) em linhas (direita) durante o período experimental em comparação com a média histórica (1970–2023)..... | 154 |
| Figura 2. Localização dos pontos de coletas dos ecótipos de <i>P. lepton</i> . Rio Grande do Sul, 2023. ....  | 155 |
| Figura 3. Semente viável (a) e mortas (b) dos ecótipos de <i>P. lepton</i> mensurada através do teste de tetrazólio. ....   | 188 |
| Figura 4. Correlações genéticas entre caracteres de produção e qualidade fisiológica de sementes em ecótipos de <i>Paspalum lepton</i> com base em BLUP. ....   | 193 |

## CAPÍTULO VI

|   |     |
|---|-----|
| Figura 1. Dados climáticos de precipitação (mm) em barras (esquerda) e temperatura média (°C) em linhas (direita) durante o período experimental em comparação com a média histórica (1970–2023)..... | 179 |
|---|-----|

|   |     |
|---|-----|
| Figura 2. Localização dos pontos de coletas dos ecótipos de <i>P. lepton</i> . Rio Grande do Sul, 2023..... | 180 |
|---|-----|

## CAPÍTULO VII

|   |     |
|---|-----|
| Figura 1. Dados climáticos de precipitação (mm) em barras (esquerda) e temperatura média (°C) em linhas (direita) durante o período experimental em comparação com a média histórica (1970–2023).....   | 213 |
| Figura 2. Localização dos pontos de coletas dos ecótipos de <i>P. lepton</i> . Rio Grande do Sul, 2023.....   | 214 |
| Figura53. Estimativas do número mínimo de medições ( $\eta$ ) para determinados $R^2$ via diferentes métodos de análise para selecionar ecótipos superiores com base em caracteres de produção forrageira em ecótipos de <i>Paspalum lepton</i> ..... | 229 |
| Figura 1. Dendograma de dissimilaridade genética de 84 ecótipos de <i>P. lepton</i> , obtido pelo método UPGMA, na matriz de distâncias genéticas de Mahalanobis ( $D_{ii}^2$ ).....  | 231 |

## CAPÍTULO VIII

|  |     |
|--|-----|
| Figure 1. Phases of intraspecific crossing in <i>Paspalum notatum</i> . (a) Male parent and pollen collected; (b) female inflorescence pollinated after emasculation.....  | 64  |
| Figure 2. Dendrogram of genetic dissimilarity among 74 intraspecific hybrids and eight parents of <i>P. notatum</i> Flügge, obtained by the UPGMA method, based on the average genetic Euclidean distance matrix considering the yield and morphological characteristics evaluated. Cophenetic correlation index = 0.76. Group I (blue); Group II (light blue); Group III (orange); Group IV (purple); Group V (light purple); Group VI (green); Group VII (orange); Group VIII (light green); Group IX (red) and Group X (light red). ..... | 69  |
| Figura34. Dendograma de dissimilaridade genética de 84 ecótipos de <i>P. lepton</i> , obtido pelo método UPGMA, na matriz de distâncias genéticas de Mahalanobis ( $D_{ii}^2$ ). ....  | 276 |
| Figura 1. Dados climáticos de precipitação (mm) em barras (esquerda) e temperatura média (°C) em linhas (direita) durante o período experimental em comparação com a média histórica (1970–2023).....  | 249 |

|   |     |
|---|-----|
| Figura 2. Localização dos pontos de coletas dos ecótipos de <i>P. lepton</i> . Rio Grande do Sul, 2023.....   | 249 |
| Figura 3. Semente viável (a) e inviável (b) dos ecótipos de <i>P. lepton</i> mensurada através do teste de tetrazólio. ....   | 259 |
| Figura 4. Dendograma de dissimilaridade genética de 84 ecótipos de <i>P. lepton</i> , obtido pelo método UPGMA, na matriz de distâncias genéticas de Mahalanobis ( $D_{ii'2}$ ) ... | 276 |

## RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

| <b>Abreviatura</b>  | <b>Descrição</b>  |
|---|---|
| $\hat{p}$   | Coeficiente de repetibilidade   |
| $\hat{r}_{gg}$  | Acurácia seletiva   |
| $\hat{r}_{gg} = \sqrt{h_{mg}^2} =$  | Accuracy in genotype selection  |
| $C_{gm}^2 = \frac{\hat{\sigma}_{int}^2}{\hat{\sigma}_f^2}$  | Coefficient for determining the effects of the genotypes x measurements interaction |
| $COV_a(XY)$   | Covariância de ambiente de XY   |
| $COV_f(XY)$   | Covariância fenotípica de XY  |
| $COV_g(XY)$   | Covariância genética de XY  |
| $C_p^2$   | Determination coefficient of plot effects   |
| $h_{mg}^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_g^2 + \left(\frac{\hat{\sigma}_e^2}{b}\right) + \left(\frac{\hat{\sigma}_c^2}{nb}\right)}$ | Genotype mean heritability; n: number of plots; b: number of blocks                 |
| $r_a(XY)$   | Correlação ambiental de XY  |
| $r_f(XY)$   | Correlação fenotípica de XY   |
| $r_g(XY)$   | Correlação genotípica de XY   |
| $r_{gmed} = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{(\hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}_{int}^2)}$   | Genotypic correlation through measurements  |
| $s_{ii'}$   | Coeficiente de coincidência   |
| $\bar{X}_{new}$   | New average   |
| $\sigma_a^2$  | Variância genética aditiva  |
| $\sigma_a^2(X)$   | Variância de ambiente de X  |
| $\sigma_a^2(Y)$   | Variância de ambiente de Y  |
| $\sigma_f^2$  | Variância fenotípica  |
| $\sigma_f^2(X)$   | Variância fenotípica de x   |
| $\sigma_f^2(Y)$   | Variância fenotípica de Y   |
| $\sigma_g^2$  | Variância genética  |
| $\sigma_g^2(X)$   | Variância genética de X   |
| $\sigma_g^2(Y)$   | Variância genética de Y   |
| $D_{ii'}^2$   | Distância generalizada de Mahalanobis   |
| $d_{ii'}$   | Distância euclidiana  |
| $\bar{d}_{ii'}$   | Distância euclidiana média  |
| $d_{ij'}^2$   | Quadrado da distância euclidiana  |
| $d_{ij'}$   | Distância ponderada   |
| $\sigma_e^2$  | Environmental variance  |
| $\sigma_g^2$  | Genotypic variance  |
| $\sigma_{gm}^2$   | Variance of genotypes x measurements interaction                                    |

|                   |   |
|-------------------|---|
| $\sigma_{perm}^2$ | Permanent ambient variance  |
| °C                | Grau celsius  |
| AA                | Análise de agrupamento  |
| ABIEC             | Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes           |
| AECorrel          | Análise estrutural baseada na matriz de covariância                   |
| AECov             | Análise estrutural baseada na matriz de correlação                    |
| AIDM              | Accumulated inflorescence dry mass                                    |
| AI                | Alumínio  |
| ALDM              | Accumulated leaf dry mass   |
| ALT               | Altura de planta  |
| ANADEV            | Deviance analysis   |
| ANOVA             | Analysis of variance  |
| ASDM              | Accumulated stem dry mass   |
| ATDM              | Accumulated total dry mass  |
| AVC               | Análise de variáveis canônicas  |
| B                 | Boro  |
| BLUP              | Best linear unbiased prediction                                       |
| Ca                | Cálcio  |
| CC                | Capacidade de campo   |
| CCC               | Coeficiente de correlação cofenética                                  |
| CIF               | Ciclo até o início do florescimento (nº dias)                         |
| cm                | Centímetro  |
| CNPq              | Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico         |
| CPCorrel          | Análise de componentes principais baseada nas matrizes de correlação  |
| CPCOV             | Análise de componentes principais baseada nas matrizes de covariância |
| CP <sub>e</sub>   | Coeficiente de precisão experimental                                  |
| CQFS-RS/SC        | Comissão de Química e Fertilidade do Solo - RS/SC                     |
| CR                | Comprimento do racemo (cm)  |
| CS                | Comprimento de sementes (mm)  |
| CTC efetiva       | Capacidade de troca de cátions determinada no ph do solo              |
| CTC pH 7          | Capacidade de troca de cátions estimada em ph 7                       |
| Cu                | Cobre   |
| cv.               | Cultivar  |
| CV <sub>e</sub>   | Coeficiente de variação experimental                                  |
| CV <sub>g</sub>   | Coeficiente de variação genético                                      |
| CV <sub>r</sub>   | Coeficiente de variação relativo                                      |
| DBC               | Delineamento em blocos ao acaso                                       |
| DHE               | Ensaio de Distinguibilidade, Homogeneidade e Estabilidade             |
| DPFA              | Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia                |
| DPR               | Densidade de perfilhos reprodutivos (perfilhos planta <sup>-1</sup> ) |
| DPV               | Densidade de perfilhos vegetativos (perfilhos planta <sup>-1</sup> )  |
| EM                | Expectation-maximization algorithm                                    |
| EUA               | Estados Unidos da América   |
| g                 | Predicted genotypic effect  |

|                  |   |
|------------------|---|
| G                | Gain  |
| G                | Germinação (%)  |
| GH               | Growth habit  |
| H+AI             | Acidez potencial  |
| H <sup>2</sup>   | Herdabilidade no sentido amplo  |
| h <sup>2</sup>   | Herdabilidade no sentido restrito   |
| HC               | Hábito de crescimento   |
| IBGE             | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística   |
| IBONE            | Instituto de Botánica del Nordeste – Argentina  |
| IC               | Índice de colheita  |
| IC               | Incidência de <i>Claviceps paspali</i> (%)  |
| IDM              | Inflorescence dry mass  |
| ISG (%)          | Individual selection gain in relation to the overall average of the genotypes in percentage |
| IVG              | Índice de velocidade de germinação  |
| K                | Potássio  |
| KLT              | Transformada discreta de Karhunen-Loève   |
| KNO <sub>3</sub> | Nitrato de potássio   |
| LDM              | Leaves dry mass   |
| LRT              | Likelihood ratio test   |
| LS               | Lagura de sementes (mm)   |
| LSR              | Leaf:stem ratio   |
| m                | Saturação por alumínio  |
| Mg               | Magnésio  |
| mm               | Milímetro   |
| Mn               | Manganês  |
| MO               | Matéria orgânica  |
| MS               | Massa seca total (g MS planta <sup>-1</sup> )   |
| MSC              | Massa seca de colmo (g MSC planta <sup>-1</sup> )   |
| MSF              | Massa seca de folhas (g MSF planta <sup>-1</sup> )  |
| MSI              | Massa seca de inflorescências (g MSI planta <sup>-1</sup> )                                 |
| MV               | Massa verde (g MV planta <sup>-1</sup> )  |
| n.d              | Não determinado   |
| NC               | Número de condição  |
| NP               | Número de perfilhos (perfilhos planta <sup>-1</sup> )                                       |
| NRI              | Número de racemos por inflorescência (nº)   |
| ns               | Não significativo estatisticamente  |
| NSI              | Número de sementes por inflorescência (nº)  |
| NSR              | Número de sementes por racemos (nº)   |
| P                | Fósforo   |
| PC               | Primeira contagem da germinação (%)   |
| PCA              | Análise de componentes principais   |
| PCACor           | Principal components analysis based on the correlation matrix                               |
| PCACov           | Principal components analysis based on the residual variance and covariance matrix          |
| PF               | Persistência forrageira   |
| PH               | Plant height  |
| PMS              | Peso de mil sementes (g)  |
| R <sup>2</sup>   | Coeficiente de determinação   |

|             |  |
|-------------|--|
| REML        | Residual or Restricted Maximum Likelihood  |
| RFC         | Relação folha:colmo  |
| RSA         | Rendimento de sementes aparentes ( $\text{g planta}^{-1}$ )  |
| RSP         | Rendimento de sementes puras ( $\text{g planta}^{-1}$ )  |
| S           | Enxofre  |
| SACor       | Structural analysis based on the correlation matrix  |
| SACov       | Structural analysis based on the covariance matrix   |
| SDM         | Stem dry mass  |
| SS          | Seed set (%)   |
| SV          | Source of variation  |
| Sx          | Variância dentro do caractere  |
| TDM         | Total dry mass   |
| TF          | Tolerância ao frio   |
| TMG         | Tempo médio de germinação (dias)   |
| TPD         | Tiller population density  |
| TZ          | Viabilidade das sementes através do teste de tetrazólio (%).   |
| u + g       | Genotypic value  |
| u + g       | Predicted genotypic values, free from any interaction with years   |
| u + g + gem | Average genotypic value in the years studied and capitalizes on an average interaction with all environments evaluated |
| UFRGS       | Universidade Federal do Rio Grande do Sul  |
| UNNE        | Universidad Nacional del Nordeste – Argentina  |
| UPGMA       | Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages   |
| USDA        | United States Department of Agriculture  |
| V           | Saturação de bases   |
| WPGMC       | Weighted Pair Group Method with Arithmetic Mean  |
| Xnew        | New average  |
| Zn          | Zinco  |
| $\lambda_j$ | Autovalor  |
| $\rho$      | Coeficiente de correlação  |

## CAPÍTULO I

## 1. Introdução

O melhoramento genético pode ser conceituado como uma sinergia entre arte, ciência e atividade comercial voltada à alteração das características das plantas, de modo a torná-las mais adequadas e benéficas ao uso humano (Fehr, 1987; Bernardo, 2002; 2020). Alicerçado nessa definição, é possível conjecturar que, antes das pesquisas pioneiras de Darwin, Mendel e Fisher, o processo de aprimoramento era conduzido com base na percepção visual aguçada dos melhoristas, que escolhiammeticulosamente as características fenotípicas desejadas para compor as novas colheitas (Ramalho et al., 2005). Todavia, com a emergência dos pilares da genética quantitativa e da biometria, tais observações passaram a ser quantificadas por meio de delineamentos experimentais rigorosos (Allard, 1961). Vale destacar que a estimativa dos parâmetros genéticos e fenotípicos constitui uma das mais significativas contribuições da genética quantitativa ao campo do melhoramento vegetal (Hallauer et al., 2010).

É possível afirmar, portanto, que o melhoramento genético de plantas figura como uma abordagem eficaz no aumento da produtividade agrícola, tendo como objetivo primordial a geração de genótipos de elevada performance, dotados de qualidades específicas relacionadas às sementes e/ou grãos, resistência a estresses de natureza abiótica e biótica, e uma destacada capacidade de adaptação aos ambientes-alvo (Yu et al., 2019; Silva Junior et al., 2021). No âmbito da experimentação no campo do melhoramento genético de plantas, uma etapa crucial consiste no conhecimento e na quantificação da diversidade genética existente entre os indivíduos, visando primordialmente à formação de uma população-base robusta para a atuação do melhorista (Cruz et al., 2020). Essa diversidade genética pode ser avaliada mediante o estudo de caracteres agronômicos, morfológicos e moleculares. É importante ressaltar que, na ausência de variabilidade suficiente para a característica em estudo, os ganhos obtidos por meio da seleção serão limitados (Allard & Hansche, 1964). Para tanto, torna-se imprescindível o emprego de ferramentas biométricas que permitam a quantificação das variações provenientes das fontes estudadas, bem como a estimativa de parâmetros genéticos, tais como a herdabilidade e o coeficiente de variação genética, por exemplo. Ademais, a análise das associações entre caracteres assume um papel de destaque, com a finalidade de

direcionar a seleção indireta para aprimorar o caractere de interesse (Rocha et al., 2003).

Para a formação de uma população base, que permita a identificação de progenitores portadores de características desejáveis (Cruz et al., 2020), é crucial que haja mais estudos cujo objetivo principal consiste em investigar a diversidade genética presente em coleções de germoplasma. No que tange ao melhoramento genético de plantas forrageiras nativas, a atuação da Universidade Federal do Rio Grande do Sul há mais de cinco décadas engloba atividades de coleta, caracterização e aprimoramento de espécies, com destaque para o gênero *Paspalum*, entre outras. Adicionalmente, esforços têm sido direcionados para o desenvolvimento de cultivares forrageiras de outras espécies.

No Brasil, as pastagens assumem uma importância primordial como fonte alimentar para os ruminantes (Feitosa et al., 2022), abarcando uma área extensa de 156 milhões de hectares e estendendo-se por todos os seis biomas existentes (Projeto MapBiomass, 2021). Nesse ínterim, o Brasil ostenta um rebanho bovino estimado em cerca de 196,47 milhões de cabeças, com um abate anual de aproximadamente 39,14 milhões de animais (IBGE, 2019). Tal panorama consolida o país como o maior exportador e o segundo maior produtor mundial de carne bovina, rivalizando apenas com os Estados Unidos (Jank et al., 2014; ABIEC, 2022). Dentre os 27 estados brasileiros, dez se destacam por responderem por mais de 70% da produção de bovinos no país, conforme apresentado na Tabela 1. Mato Grosso, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Goiás, Pará, Rio Grande do Sul, Rondônia, Paraná e São Paulo emergem como os estados de maior relevância nesse contexto.

Tabela 1. Rebanho estimado e participação dos Estados na produção total bovina no Brasil.

| Estados            | Rebanho estimado em 2021<br>(milhões de cabeças) | Participação do rebanho do Estado<br>no total do Brasil (%) |
|--------------------|--|---|
| Mato Grosso        | 27,800   | 14,15   |
| Minas Gerais       | 22,261   | 11,33   |
| Mato Grosso do Sul | 22,023   | 11,21   |
| Goiás              | 19,706   | 10,03   |
| Pará               | 16,288   | 8,29  |
| Rio Grande do Sul  | 12,889   | 6,56  |
| Rondônia           | 11,252   | 5,73  |

|                     |          |      |
|---------------------|----------|------|
| Paraná              | 9,525    | 4,85 |
| São Paulo           | 9,443    | 4,81 |
| Bahia               | 9,282    | 4,72 |
| Tocantins           | 7,348    | 3,74 |
| Maranhão            | 6,205    | 3,16 |
| Santa Catarina      | 4,269    | 2,17 |
| Acre                | 2,475    | 1,26 |
| Rio de Janeiro      | 2,266    | 1,15 |
| Ceará               | 2,164    | 1,1  |
| Espírito Santo      | 1,885    | 0,96 |
| Piauí               | 1,613    | 0,82 |
| Pernambuco          | 1,467    | 0,75 |
| Amazonas            | 1,432    | 0,73 |
| Paraíba             | 1,202    | 0,61 |
| Sergipe             | 1,008    | 0,51 |
| Alagoas             | 897248,0 | 0,46 |
| Rio Grande do Norte | 863,88   | 0,44 |
| Roraima             | 780,55   | 0,4  |
| Distrito Federal    | 70,46    | 0,04 |
| Amapá               | 41,20    | 0,02 |
| Brasil              | 196,469  | 100  |

Fonte: ABIEC, 2022.

Além da importância da pecuária para o Brasil, pode-se agregar a isso o argumento de que as pastagens fornecem serviços ecossistêmicos críticos para a sociedade em geral (Sollenberger et al., 2019). Embora exista uma grande diversidade de gêneros e espécies forrageiras presentes na alimentação de bovinos no Brasil, há predominância de poucas cultivares forrageiras que prevalecem na dieta dos animais, com destaque para os gêneros *Urochloa* (syn. *Brachiaria*), *Cynodon* e *Megathyrsus* (syn. *Panicum*), os quais abrangem grandes áreas produtivas para produção de carne e leite (Jank et al., 2014; Guarda & Guarda, 2014).

Este fato pode refletir de maneira negativa no sistema de produção, visto que nem todas as espécies utilizadas são adaptadas às diversas condições edafoclimáticas, principalmente na região Sul do Brasil. As espécies forrageiras nativas em sistemas de agricultura pastoril auxiliam na estabilidade produtiva e na conservação dos recursos naturais, podendo reduzir custos e risco associados à

produção pecuária, culminando no aumento da sustentabilidade do sistema (Gasparetto et al., 2021). As gramíneas do gênero *Paspalum* são as forrageiras nativas mais importantes da América do Sul (Novo et al., 2015), principalmente por serem bem adaptadas às condições de solo e clima do Rio Grande do Sul, o que resulta em um aumento na produção forrageira dessas espécies (Graminho et al., 2017).

De acordo ao exposto anteriormente, urge salientar a preeminência do bioma Pampa, cuja magnitude abrange mais de 190.000 km<sup>2</sup> (entre as latitudes 24° e 35° S), compreendendo os territórios do Uruguai, Nordeste da Argentina, Sul do Brasil e uma parcela do Paraguai (Pallarés et al., 2005). No contexto brasileiro, sua extensão engloba escassos 2,3% do território, atribuindo-lhe o status de segundo menor bioma nacional (IBGE, 2019). Notoriamente, esse ecossistema estende-se meridionalmente pelo Estado do Rio Grande do Sul, situando-se como um dos principais polos de criação bovina no Brasil (Tabela 1). Nesse sentido, o Pampa ostenta uma profusão de espécies nativas de forragem, destacando-se, sobretudo, as várias espécies do gênero *Paspalum*.

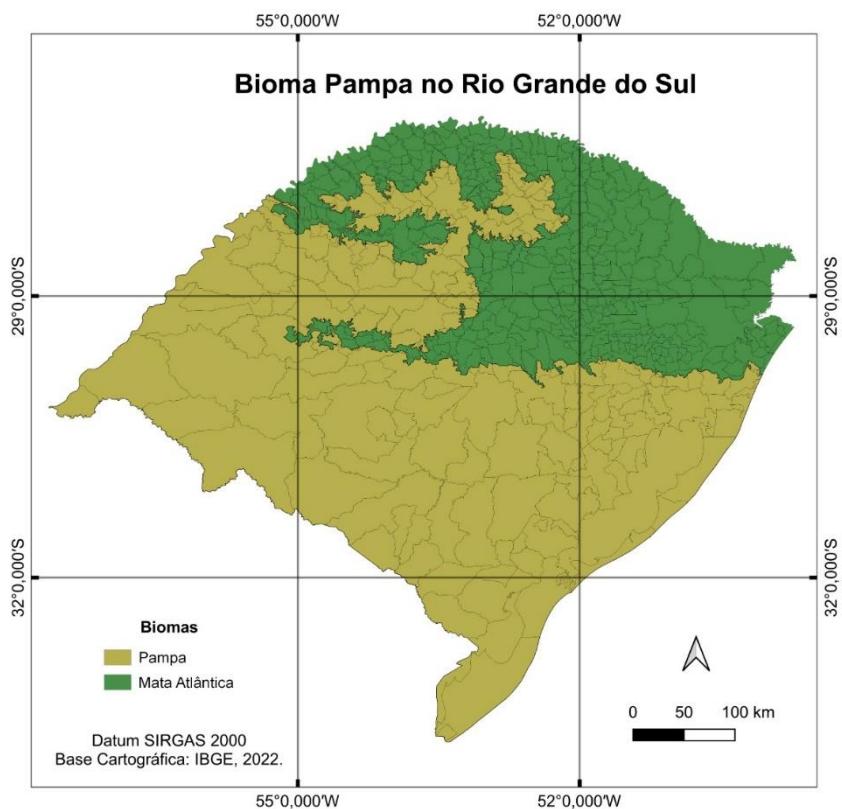


Figura 2. Distribuição do bioma Pampa e Mata Atlântica no Estado do Rio Grande do Sul.

Essa singularidade é pautada primordialmente por vastas áreas de pastagens, contudo, não se limita a elas, abarcando também outras tipologias de ecossistemas, tais como florestas e matas, parques análogos às savanas, palmeirais, afloramentos rochosos, dunas, diversas categorias de zonas úmidas e corpos hídricos (Andrade et al., 2023). A fisionomia predominante dessas paisagens pampianas é herbácea, caracterizada por relevo plano e uma profusão de espécies pertencentes às famílias Poaceae, Asteraceae, Cyperaceae, Fabaceae, Rubiaceae, Apiaceae e Verbenaceae (Brasil, 2000). As pastagens naturais predominam no âmago do Bioma Pampa, cobrindo aproximadamente 95% da sua abrangência territorial, o que, por conseguinte, endossa a pecuária como uma das principais atividades econômicas desse ecossistema (Carvalho et al., 2006).

Logo, conforme já se fez alusão, as gramíneas do gênero *Paspalum* despontam como os principais componentes das pastagens naturais nas regiões tropicais e subtropicais das Américas, sendo que várias dentre elas oferecem forragem de excelência, acarretando um elevado potencial para processos de aprimoramento genético, em prol do estabelecimento de pastagens cultivadas. É válido destacar que esse gênero engloba mais de 400 espécies, as quais se adaptam a diferentes ecossistemas, o que, por conseguinte, mitiga os riscos de desequilíbrios biológicos, em virtude da vasta diversidade genética existente (Valls, 2005; Zuloga & Morrone, 2005).

Nesse ínterim, o presente estudo almeja implementar ferramentas biométricas na pesquisa sobre a diversidade genética em híbridos de *Paspalum notatum* ecótipos de *Paspalum lepton*. Dentre os objetivos primordiais, destaca-se a utilização da biometria para estimar a diversidade genética e selecionar caracteres que preservem maior variabilidade intrapopulacional, além da estimação de parâmetros genéticos, associação e definição de caracteres aptos à seleção direta e indireta. Ademais, pretende-se identificar híbridos e ecótipos de excelência para constituir uma população-base fundamentada em ideótipos voltados à produção de forragem e sementes.

## 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1. Gênero *Paspalum*

O gênero *Paspalum* (Poaceae), descrito pela primeira vez por Linnaeus em 1759, é um importante membro da tribo Paniceae, subfamília Panicoideae e família Poaceae, uma das maiores famílias de angiospermas, e inclui entre 310 a 400 espécies que se estendem pelas regiões mais quentes do mundo (de Wet et al., 1983; Morrone et al., 2012). Em sua grande maioria, naturalmente distribuídas pelas regiões tropicais e subtropicais das Américas (Chase, 1929; Sator et al., 2009; Scataglini et al., 2014; Soreng et al., 2015). É encontrado em diversos habitats, tais como florestas subtropicais, savanas, pântanos e dunas, com predominância para serem encontradas nas pastagens naturais do leste da Bolívia, Paraguai, região central e sul do Brasil, norte da Argentina e Uruguai (Quarin et al., 1996; Zuloga & Morrone, 2005). É pertinente ressaltar, ainda, que o gênero *Paspalum* sobressai por abrigar um notável número de 47 espécies apomíticas, constituindo-se, desse modo, no mais proeminente entre todos os gêneros de angiospermas nesse aspecto peculiar (Ortiz et al., 2013; Hojsgaard et al., 2014).

O principal centro de origem e diversidade do gênero está localizado nos trópicos e subtrópicos da América do Sul (Chase, 1929), principalmente no Brasil central, onde numerosas espécies parecem estar associadas a savanas e terrenos rochosos (Cidade et al., 2013). Além disso, o gênero também é encontrado no leste da Bolívia, leste do Paraguai e nordeste da Argentina (Sator et al., 2009). O Brasil abriga o maior número de espécies do gênero *Paspalum*, totalizando aproximadamente 220 espécies, as quais existem em quase todas as comunidades de plantas herbáceas nos diversos biomas brasileiros (Oliveira & Valls, 2002; Zuloaga & Marrone, 2005). O Cerrado brasileiro é apontado como o centro de origem e diversidade dessas espécies (Chase, 1929; Judziewicz, 1990; Zuloaga & Marrone, 2005). A notável diversidade observada nas populações naturais torna esse grupo um complexo de espécies e formas extremamente variável, ainda não bem definido do ponto de vista taxonômico. Portanto, é esperado que haja uma grande diversidade em relação a características morfológicas e fisiológicas, entre outras (Sator et al., 2009).

Devido ao grande número de espécies do gênero *Paspalum*, que possuem atributos forrageiros importantes para a produção animal e adaptabilidade a diferentes ecossistemas (Novo et al., 2017), o grau de complexidade na classificação aumenta. Portanto, diversos autores propuseram e debateram extensivamente a divisão do gênero *Paspalum* em subgêneros, seções ou grupos informais na comunidade científica (Chase, 1929; Barreto, 1974; Morrone et al., 1995; Canto-Dorow, 1996; Morrone et al., 1996; Morrone et al., 2000; Oliveira & Valls, 2002; Denham et al., 2002; Denham, 2005; Rua & Aliscioni, 2002; Zuloaga et al., 2004; Zuloga & Morrone, 2005; Rosso et al., 2022).

Atualmente, são reconhecidos quatro subgêneros de *Paspalum*: i) *Paspalum* subg. *Anachyris* (Nees) Chase (Morrone et al., 2000; Urbani et al., 2002; Hojsgaard et al., 2008; Rua et al., 2010); ii) *Paspalum* subg. *Ceresia* (Pers.) Rchb.; iii) *Paspalum* subg. *Harpastachys* (Trin.) S. Denham, anteriormente conhecido como gênero *Thrasya* (Denham, 2005; Sánchez-Ken, 2010); e iv) *Paspalum* subg. *Paspalum* (Zuloaga & Morrone, 2005), sendo este último composto por aproximadamente 300 espécies (Chase, 1929; Denham, 2005).

Inicialmente, Chase (1929) dividiu o gênero *Paspalum* subgênero *Paspalum* em 25 grupos informais. Posteriormente, em uma revisão mais abrangente do gênero, Chase (1939) propôs a exclusão dos subgêneros, formando numerosos grupos sem uma categoria taxonômica formalizada (Chase, 1939; Zuloaga e Morrone, 2005). O grupo taxonômico informal dentro do grupo *Paspalum*, denominado *Plicatula* (Chase, 1929) é considerado como um grande complexo agâmico com relativo potencial para produção forrageira (Motta et al., 2020). Esse grupo taxonômico informal é composto por espécies *P. atratum*, *P. rojasii* Hackel, *P. parodii* Barreto, *P. yaguaronense* Henrard, *P. guenoarum*, *P. lepton* (ex *P. nicorae*) e *P. plicatulum* (Barreto, 1974; Batista & Godoy, 1998). Ao que se sabe, pelo menos três espécies deste grupo foram introduzidas para cultivo, sendo elas *Paspalum plicatulum* Michx., *P. atratum* Swallen e *P. guenoarum* Arechav (Aguilera et al., 2011). Porém, as classificações propostas foram embasadas em semelhanças morfológicas, relações genéticas e evolutivas entre esses grupos propostos nem sempre são claras (Cidade et al., 2013).

Em termos gerais, além das classificações anteriormente mencionadas, as espécies do gênero podem ser classificadas de acordo com seus níveis de ploidia e modo de reprodução, sendo divididas em pelo menos quatro categorias principais: (1) diploides (2x), que se reproduzem de forma sexual; (2) multiploides, encontrados em

muitas espécies e geralmente apresentam citótipos diploides sexuais (2x) e tetraploides apomíticos (4x), mas também podem ter outros níveis de ploidia, como triploides (3x), hexaploides (6x), além de citótipos apomíticos como pentaploides (5x) e heptaploides (7x), além dos já citados diploides e tetraploides ; (3) poliploides apomíticos, que possuem um único nível de ploidia, principalmente tetraploides. Essas espécies podem apresentar associações cromossômicas multivalentes ou emparelhamento cromossômico bastante irregular durante a meiose; (4) poliploides sexuais, predominantemente tetraploides e hexaploides, que exibem emparelhamento cromossômico bivalente regular durante a meiose, uma característica dos alopoliploides de origem híbrida (Novo et al., 2020). Normalmente, o citótipo tetraploide é o mais comum na maioria das espécies multiploides de *Paspalum* (Quarin, 1992). Aproximadamente 70% das espécies pertencem aos sistemas genéticos II, III e IV, conforme descrito na Tabela 2 de Ortiz et al. (2013).

Tabela 2. Sistema de reprodução no gênero *Paspalum*.

| Grupo | Sistema genético  | Nº de espécies |
|-------|---|----------------|
| I     | Diploide, meiose regular, sexual e auto fértil  | 6              |
| II    | Diploide, meio regular, sexual e autoestéril. Potencial aposporia observada em duas espécies.   | 12             |
| III   | Multiploides (citótipos diploides e poliploides): diploides com meiose regular, sexual e autoestéril, embora potencial aposporia tenha sido observada em oito citótipos diploides; Poliploides (principalmente 4X) com associações cromossômicas geralmente multivalentes na meiose, apomíticos apospóricos, pseudogânicos e auto-férteis | 19             |
| IV    | Poliploides (principalmente 4X) geralmente com associações cromossômicas multivalentes na meiose sugerindo autopoliplidia, excepcionalmente com cromossomos não pareados (alopoliploidia), apomíticos apospóricos, pseudogânicos e auto-fertéis.  | 19             |

|       |  |    |
|-------|--|----|
|       | Poliploides (principalmente 4X e alguns 6X), associações cromossômicas bivalentes na meiose indicando alopoliploidia, reprodução sexual, auto-fértil.  |    |
| V     | Origem multiploide ou alopoliploide (sexual 4X, mais citótipos poliploides superiores: 5X, 6X ou 8X), tetraploides com emparelhamento regular de cromossomos, Poliploides superiores com meiose regular ou irregular. <i>P. dilatatum</i> , <i>P. durifolium</i> , <i>P. ionanthum</i> . | 9  |
| VI    | Poliploide, comportamento cromossômico asináptico ou desináptico na meiose, núcleo de restituição, apomíticos diplospóricos. <i>P. conjugatum</i> , <i>P. longifolium</i> , <i>P. minus</i> (diplosporia + aposporia).   | 3  |
| VII   | Citótipos sexual tetraploide e poliploides superiores com apomixia diplospórica e alguns potenciais para aposporia <i>P. scrobiculatum</i> .   | 1  |
| Total |  | 72 |

Fonte: Ortiz et al. (2013).

Várias espécies, especialmente as pertencentes ao grupo *Paspalum* subg. *Paspalum*, possuem uma significativa importância econômica devido ao seu uso predominante como pastagens em sistemas de produção de bovinos (Novo et al., 2016). No Brasil, Valls (1994) estimou que cerca de 220 espécies apresentam potencial forrageiro. Além disso, algumas espécies são cultivadas em diferentes partes do mundo para fins ornamentais e como cereais (Burson & Bennett, 1971; Acuña et al., 2019). Entre os vinte grupos taxonômicos estabelecidos por Barreto (1974) para a região subtropical, destacam-se os grupos Dilatata, Plicatula e Notata. Na região, quatro biótipos sexuais e apomíticos do grupo Dilatata coexistem: *P. dilatatum* Poiret, *P. urvillei* Steudel, *P. pauciciliatum* Parodi e *P. dasyleurum* Kuntze ex Desv. (Valls & Pozzobon, 1987). *P. urvillei* é considerado o tetraploide sexual envolvido na origem de novos pentaploides devido às suas características de polinização, atuando tanto como doador de pólen quanto como receptor (Caponio & Quarín, 1990).

*P. dilatatum* Poir. (grupo Dilatata) e *P. notatum* Flüggé (grupo Notata) desempenham um papel importante e são amplamente utilizados como forragem no

sul e sudeste dos Estados Unidos (EUA) (Chambliss & Sollenberger, 1991; Evers & Burson, 2004; Gates et al., 2004). Nos EUA, a cv. Pensacola (*P. notatum*) tem sido empregada na rotação de culturas visando reduzir a incidência de doenças em leguminosas forrageiras (Gates et al., 2004). Recentemente, no Brasil, três cultivares de *P. notatum* foram lançadas para uso como gramados, sendo elas: cv. Tuim, cv. Aruaí e cv. Maritaca, todas desenvolvidas pela Embrapa Pecuária Sudeste.

Na Austrália, *P. lepton* (syn *nicorae*), é considerado como forrageira de ampla adaptação, sendo utilizada tanto em solos arenosos quanto em argilosos, além de ser capaz de suportar condições de precipitação variando entre 900 e 1500 mm/ano (Pizarro, 2000). O autor relata que a cv. Blue Dawn, derivada da cv. americana Amcorae, mostrou-se altamente tolerante a períodos de seca e temperaturas baixas (até -4°C). Por sua vez, *P. atratum* Swallen (grupo Plicatula) possui potencial como forrageira em áreas sujeitas a inundações periódicas na Flórida (EUA), nordeste da Argentina, Brasil, Tailândia, Filipinas e Austrália (Evers & Burson, 2004). Além disso, *P. scrobiculatum* L. (grupo Plicatula) é cultivado na Índia como cereal (de Wett, 1983). Por fim, *P. vaginatum* Sw. (grupo Disticha) é cultivado como grama (Duncan & Carrow, 2000).

Numerosos estudos têm sido conduzidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Plantas Forrageiras da UFRGS, cujas temáticas abordadas são variadas e aportam a seleção para rendimento de forragem e tolerância ao frio (Saraiva et al., 2021), teor proteína bruta em híbridos de *P. plicatulum* x *P. guenoarum* (Saraiva et al., 2019), performance e produção forrageira, valor nutritivo, tolerância ao frio, fertilização nitrogenada e consórcio com leguminosas de híbridos interespecíficos entre *P. plicatulum* x *P. guenoarum* (Pereira et al., 2015; Motta et al., 2016; Motta et al., 2017; Motta et al., 2020) e de híbridos intraespecíficos de *P. notatum* (Weiler et al., 2018; Graminho et al., 2019; Barbosa et al., 2019; Ghellar Junior et al., 2022; Krycki et al., 2022), número cromossômico, comportamento meiótico e fertilidade de pólen em acessos de *P. lepton* (Reis et al., 2008), utilização de microssatélites e RAPD na caracterização molecular de *P. urvillei* (Sawasato et al., 2008), variação morfológica em acessos de *P. lepton* (Reis et al., 2010), utilização de microssatélites para *P. atratum* e amplificação cruzada (Cidade et al., 2010), produção forrageira de acessos *P. lepton* (Pereira et al., 2011), variabilidade genética de caracteres forrageiros em *P. notatum*, *P. guenoarum* e *P. lepton* (Pereira et al., 2012; Saraiva et al., 2013; Motta et al., 2013), além da adaptabilidade e estabilidade (Pereira et al., 2015), variabilidade e

seleção de progênies de *P. guenoarum*, *P. plicatulum* e *P. lepton* (Huber et al., 2016), ganho genético em *P. lepton* (Pereira et al., 2017) e doenças em *P. guenoaraum* (Custodio et al., 2020), duplicação cromossômica em *P. notatum* (Weiler et al., 2015), modo de reprodução de híbridos intraespecíficos de *P. notatum* (Weiler et al., 2017; Krycki et al., 2020; Machado et al., 2021; Ghellar Junior et al., 2022). No entanto, no que diz respeito à caracterização morfológica, diversidade genética com base em caracteres forrageiros, rendimento e qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes, o conhecimento ainda é incipiente, especialmente em relação a *Paspalum lepton*.

## 1.2. *Paspalum notatum* Flügge

*Paspalum notatum* Flügge, popularmente denominado de gama-forquilha, é uma gramínea de grande importância econômica (Fachinetto et al., 2021), principalmente por compor de forma expressiva a maior parte da cobertura dos campos nativos do sul do Brasil (Barreto, 1974; Pozzobon & Valls, 1997). É dominante também no sudoeste dos Estados Unidos (Gates et al., 2001), com aproximadamente 1,6 milhões de hectares (Newman et al., 2010), principalmente por fornecer forragem suficiente da primavera ao início do outono (Rios et al., 2020). Nos EUA, a maior parte da área cultivada é usada para pastagem e produção de feno, além do uso forrageiro, outros usos incluem gramado, cultivo de cobertura e estabilização do solo, além da produção de sementes (Blount & Acuña, 2009). No estado da Flórida, é a espécie com maior área de cultivo, com cerca de um milhão de hectares (Newman et al., 2010). Sendo introduzido também na Indonésia, com bom desempenho nos sistemas em que foi utilizado (Wawu et al., 2021). Há uma ampla aceitação e difusão dessa gramínea como forrageira de múltiplo uso, também em outros países.

É uma espécie perene, formando gramado denso, com altura entre vinte e quarenta centímetros (Otero, 1961). É de estação quente, cuja produção de matéria seca ocorre nos meses mais quentes do ano, com temperaturas entre 25 à 30°C e dias mais longos (Newman et al., 2010). A dispersão dessa espécie ocorre através de rizomas (supraterrâneos) e sementes (Barreto, 1974). Dada essas características e ampla aceitação, essa espécie recebeu destaque entre as 'Plantas para o futuro', no qual incluem plantas nativas com potencial na produção agrícola (Valls et al., 2009).

*P. notatum* possui características que a tornam uma espécie importante dentro dos ecossistemas pastoris. Além do alto potencial forrageiro (Fachinetto et al., 2012; Steiner et al., 2017). Dentre elas estão: a boa tolerância a solos de baixa fertilidade, persistência e tolerância a doenças (Gates et al., 2004), utilização em consórcios com leguminosas (Motta et al., 2020), além de possuir boa resposta à adubação nitrogenada (Machado et al., 2019; Graminho et al., 2019) e ao fotoperíodo (Machado et al., 2017). Outros estudos foram conduzidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Plantas Forrageiras da UFRGS, acerca das seguintes temáticas: citogenética, modo reprodução e expressão da aposporia (Dahmer et al., 2008; Krycki et al., 2016; Krycki et al., 2020; Machado et al., 2021), níveis de ploidia (Fachinetto et al., 2018), diversidade genética (Cidade et al., 2008; Fachinetto et al., 2017), isolamento e caracterização de locos microssatélites (Cidade et al., 2009), persistência (Fachinetto et al., 2012), variabilidade genética molecular (Cidade et al., 2013), variabilidade genética para produção de sementes (Lopes et al., 2017), duplicação cromossômica (Weiler et al., 2015), e produção forrageira de híbridos intraespecíficos (Weiler et al., 2018; Barbosa et al., 2019; Ghellar Junior et al., 2022; Krycki et al., 2022), potencial forrageiro de ecótipos (Steiner et al., 2017), além de seleção de parentais (Fachinetto et al., 2021).

### 1.3. *Paspalum lepton* (ex *P. nicorae*)

*Paspalum lepton* é nativo da América do Sul e ocorre naturalmente no nordeste da Argentina, Uruguai, leste do Paraguai, sul do Brasil (Barreto, 1956; Coradin et al., 2011; Novo et al., 2019). Já nos Estados Unidos da América, foi relatado sua introdução e posterior naturalização nos Estados da Costa do Golfo e na Costa Atlântica da Geórgia (Evers & Burson 2004). Nos EUA, foi coletado em 1945, próximo à cidade de Brunswick, no estado da Geórgia, e ficou conhecido como grama Brunswick. Posteriormente, foi transplantado para o viveiro do Serviço de Conservação do Solo em Americus, Geórgia, por Paul Tabor (Novo et al., 2019). Na Austrália, também foi introduzido e naturalizado, principalmente em Queensland e New South Wales, por meio da cultivar Blue Dawn, disponibilizada comercialmente em 1998. Essa cultivar é derivada da cv. Amcorae (Hacker et al., 1999).

No Brasil, é popularmente conhecido como Grama Cinzenta e é encontrado nos estados do Mato Grosso do Sul, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Cook et al.,

2005; Oliveira & Valls, 2008). Ocorre principalmente no Rio Grande do Sul e Santa Catarina (Barreto, 1974), nos biomas Mata Atlântica e Pampa (Coradin et al., 2011). No Rio Grande do Sul, foi relatado pela primeira vez no Posto Zootécnico de Tupanciretã, em uma área de solo arenoso (arenito Botucatu). Além disso, é descrito que rapidamente ocupou superfície de expressão, com domínio inclusive sobre o *P. notatum*, principal gramínea do bioma Pampa (Pereira, 2013).

Portanto, em relação a sua distribuição ecológica, *P. lepton* é encontrado em solos arenosos, luvisolos, argissolos e neossolos da Campanha, Depressão Central, Serra do Sudeste e Planície Costeira no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Também é encontrado em areias graníticas na Província de Córdoba, Argentina, e em solos franco-arenosos vermelhos no sudeste do Paraguai (Barreto, 1974; Oliveira & Valls, 2008). Além disso, pode ser encontrado em ambientes rochosos.

Observa-se que *P. lepton* talvez se desenvolva melhor em solos arenosos e bem drenados, mas também foi cultivado com sucesso em solos argilosos arenosos, desde que haja uma drenagem adequada e umidade adequada (Cook et al., 2020). Esses mesmos autores relatam que a precipitação nos locais de coleta varia de 800 a 1.500 mm/ano e que vários genótipos têm sido bem-sucedidos em uma faixa semelhante e até 700 mm/ano no cultivo.

Sabe-se que *P. lepton* é tolerante à seca, sobrevivendo a curtos períodos de inundação, mas não tolera o encharcamento permanente. Em relação às temperaturas médias anuais ao longo de sua distribuição, estas variam de 16 °C no Uruguai a 23 °C no Brasil, onde frequentemente ocorrem geadas. A espécie naturalizou-se em áreas com temperaturas tão baixas quanto -15 °C nos Estados Unidos, registrando uma média de 35 dias com temperaturas abaixo de zero por ano na Austrália. Portanto, apresenta tolerância ao frio; no entanto, é suscetível a queimaduras causadas por geadas severas e não apresenta crescimento durante o inverno. Os rizomas são protegidos da geada pelo solo, e mesmo as plantas severamente congeladas se recuperam rapidamente com o aumento das temperaturas e umidade (Cook et al., 2020).

Em relação à morfologia, as plantas de *P. lepton* são rizomatosas, com os rizomas principalmente nos primeiros 10 cm do solo (Figura 1), espalhando-se abaixo da superfície do solo. O desenvolvimento do rizoma pode variar de curto a longo e fino (leptomórfico), com diâmetro de 2 a 3 mm e se estendendo por mais de 25 cm por ano. Isso é diferente de *P. notatum*, que possui estolões/rizomas que se espalham na

superfície do solo (Cook et al., 2020). *P. lepton* se propaga facilmente em solos arenosos e soltos, formando touceiras (Figura 2) que, dependendo do ecótipo, podem ser ralas ou densas (Boldrini, 2011).



Figura 3. Rizomas de *P. lepton* e touceira aos dois anos de cultivo.

Os colmos do *P. lepton* são eretos e variam de 20 a 50 cm de altura, com folhas basais e entrenós curtos. As lâminas foliares geralmente são eretas a semi-eretas, planas ou conduplicadas, lanceoladas lineares, de coloração verde pálido a verde acinzentado (frequentemente com nervura central de cor mais clara). Elas podem ser glabras ou pubescentes, com comprimento variando de 20 a 30 cm e largura de 5 a 7 mm. A lígula tem tamanho variando de 0,5 a 2,5 mm de comprimento.

A inflorescência de *P. lepton* é composta por dois a seis racemos, geralmente com 2 a 7 cm de comprimento (Boldrini et al., 2006). As espiguetas são ovoide-elípticas, com comprimento de 2,4 a 2,9 mm e largura de 1,2 a 1,8 mm. A gluma e o lema estéril são densamente pubescentes ou albo-pilosos. As espiguetas têm comprimento de 3 a 3,5 mm, e o racemo apresenta ráquis glabro. As lâminas são planas, pubescentes ou pilosas em ambas as faces, com largura de 4 a 8 mm. A cariopse é castanho-escura e pronunciadamente convexa (Barreto, 1974; Oliveira & Valls, 2008). *P. lepton* possui um ciclo perene estival, com floração ocorrendo de outubro a março (Coradin et al., 2011).

Burson & Bennet (1970) citaram que a espécie é apomítica obrigatória por meio de aposporia, partenogênese e pseudogamia. Porém, atualmente, é aceito que a espécie apresenta apomixia facultativa com baixo grau de sexualidade residual (Sartor et al., 2011). Estudos realizados por Reis et al. (2008) em uma coleção do Programa de Melhoramento de Forrageiras da UFRGS mostraram que os ecótipos avaliados dessa espécie eram tetraploides ( $2n=4x=40$ ), não diferindo em relação ao número cromossômico. Esses resultados corroboram com outros autores que estudaram essa espécie, como Saura (1948), Nuñez (1952), Bashaw et al. (1970), Burson & Bennet (1970), Moraes-Fernandes et al. (1974), Pozzobon et al. (2000) e Pagliarini et al. (2001). Além disso, foi relatada uma alta taxa de germinação dos grãos de pólen, o que permite o uso dessa espécie como progenitor masculino em programas de melhoramento (Reis et al., 2008).

No Rio Grande do Sul, é comumente encontrada em solos arenosos, o que indica seu potencial de tolerância à seca e a solos de baixa fertilidade (Nabinger & Dall'Agnol, 2008). Nessas áreas, demonstra ser uma forrageira promissora (Reis et al., 2010). Além disso, as informações sobre os locais de ocorrência frequente do *P. lepton* estão associadas a outra importância dessa espécie: seu potencial de utilização na recuperação e conservação de solos degradados (Burson e Bennett, 1970; Prestes et al., 1976; Boldrini, 2006; Dall'Agnol et al., 2006). As características supracitadas, somam-se a ampla adaptação a solos de baixa a alta fertilidade, tolerância a geadas e ao calor, secas moderadas e boa produção de sementes (Tischler et al., 1990; Pizarro, 2000). Embora seja frequentemente encontrado em solos inférteis em situações nativas e naturalizadas, responde ao aumento de fertilidade (Cook et al., 2020). Esses mesmos autores descrevem as cultivares lançadas até 2005 (Tabela 3).

Tabela 3. Cultivares de *Paspalum lepton*, origem da coleta, local, país e ano de lançamento e suas características.

| Cultivar | Origem da coleta  | Local e país de lançamento | Ano de lançamento | Características   |
|----------|---|----------------------------|-------------------|---|
| Amcorae  | Origem desconhecida, Coleção institucional de Buenos Aires, Argentina | Geórgia, Estados Unidos    | 1969              | Potencial forrageiro, feno e planta de cobertura para recuperação de áreas degradadas |

|           |                                       |                             |      |  |
|-----------|---------------------------------------|-----------------------------|------|--|
| Doncorae  | Uruguaina, Grande do Sul, Brasil.     | Rio Geórgia, Estados Unidos | 1993 |  |
| Blue Dawn | Idem a Amcorae                        | cv. Australia               | 1999 | Cultivar derivada da 'Amcorae' e selecionada como uma variedade de duplo propósito forrageira/grama para uso em regiões subtropicais úmidas e subúmidas do leste da Austrália. |
| Blue Eve  | -                                     | Australia                   | 1999 | É uma mutação espontânea da cv. 'Blue Dawn', apresentando folhas mais finas e menor altura. Selecionado para gramado.  |
| Chauá     | Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. | Brazil                      | 2017 | Utilizada como planta ornamental.  |

\*Adaptado de Cook et al., 2020.

Alguns estudos foram realizados com *P. leptos*, os quais não incluíram as cultivares da Tabela 3, e sim ecótipos coletados. Nesses, a espécie demonstrou potencial forrageiro (Reis et al., 2010; Pereira et al., 2012). Em outro estudo, acessos de *P. leptos* demonstraram superioridade quanto a produção de matéria seca total, em ambos os anos e locais, em relação a cultivar comercial Pensacola (*P. notatum*). No entanto, foram inferiores aos ecótipos Baio e Azulão de *P. guenoarum* Arech (Saraiva et al., 2013). Em relação ao valor nutricional da forragem, os acessos de *P. leptos* apresentaram valores semelhantes de proteína bruta a cultivar comercial Pensacola e superior ao de acessos de *P. guenoarum* (Pereira et al., 2011). Em trabalho anterior, Barreto & Kappel (1967) citam que a espécie apresenta forragem de bom valor nutritivo. Além disso, os acessos de *P. leptos* demonstraram uma ampla variabilidade morfológica em todos os caracteres estudados (Reis et al., 2010).

Os resultados mencionados sugerem que *P. leptos* possui uma ampla base genética e, portanto, pode apresentar potencial para ganhos por meio de seleção dentro de programas de melhoramento genético. No entanto, é importante ressaltar que esses resultados ainda são incipientes. Para avançar no conhecimento sobre a seleção dos caracteres relacionadas à produção de sementes e forragem, é

necessário estabelecer três princípios básicos: (i) obtenção e quantificação da variabilidade genética, (ii) hibridação e (iii) seleção. Até o momento, há uma falta de conhecimento sobre a seleção para caracteres relacionadas à produção de sementes e forragem em *P. lepton*. Além disso, os parâmetros genéticos para esses caracteres também são inexistentes. Nesse sentido, a biometria pode ser uma ferramenta útil dentro de programas de melhoramento de *Paspalum*, assim como tem sido em outras espécies. O conhecimento biométrico proposto nesta tese visa auxiliar o processo de seleção de parentais apomíticos e híbridos superiores em relação ao rendimento de forragem e sementes.

#### **1.4. Produção de sementes forrageiras**

Os programas de melhoramento de plantas forrageiras devem, primordialmente, priorizar a produção de sementes concomitantemente com o rendimento de forragem, cujo baixo rendimento e qualidade fisiológica inferior acarretam custos elevados de implementação, resultando em baixa adoção pelos pecuaristas (Jank et al., 2011). Embora a produção de forragem seja frequentemente o critério de seleção preponderante, é imperativo reconhecer a produção de sementes como uma variável de importância intrínseca, dada a discrepância frequente entre o potencial máximo de produção de sementes e a produção de forragem (Humphreys & Riveros, 1986; Hopkinson et al., 1996).

A viabilidade e comercialização de sementes tornam-se cruciais para uma espécie, impondo a necessidade de sua consideração primordial em programas de melhoramento de forrageiras. No entanto, é comum que esta característica seja relegada a uma posição secundária em comparação com atributos associados à produção e qualidade de forragem, sendo por vezes negligenciada (Souza, 2001; Casler & Vogel, 2020).

A determinação dos componentes de rendimento de sementes em gramíneas forrageiras abrange um amplo espectro que inclui o período do desenvolvimento vegetativo até o estádio reprodutivo. Esses componentes, influenciados por complexas interações entre genética, condições ambientais e práticas de manejo, delineiam o panorama da produção de sementes (Franke & Nabinger, 1991; Nakagawa, 2014). O processo intrincado de produção de sementes em plantas forrageiras, caracterizado pela assincronia no florescimento, desuniformidade na

abertura das flores e maturação desigual das sementes, aliado à eventual ocorrência de degrana natural, demanda uma compreensão aprofundada (Boonman, 1971; González, Perez, Matias, 1988). O rendimento final é inegavelmente influenciado por práticas agronômicas específicas, exigindo uma condução diferenciada para preservar a pureza genética e a qualidade fisiológica das sementes (Casler & Vogel, 2020).

Limitações adicionais permeiam a produção de sementes em espécies forrageiras tropicais e subtropicais, notadamente a baixa taxa de formação de sementes, apresentando-se como desafios a serem superados mediante estratégias de manejo judiciosas (Souza, 2013). Diversos fatores, incluindo doenças fúngicas (e.g., *Claviceps*, *Ustilago* e *Tilletia*), abortamento de óvulos, condições climáticas adversas e deficiências nutricionais, contribuem para a baixa formação de sementes (Souza, 2013). O Ergot, desencadeado pelo fungo *Claviceps paspali*, é um agente deteriorante da qualidade de sementes de genótipos de *Paspalum notatum*, ilustrando a complexa interação entre patologias e produção de sementes (Knight & Bennett, 1953; Burton 1955; Acunã et al., 2007).

A produção de sementes de *Paspalum* no sul do Brasil apresenta dificuldades devido ao não sincronismo na emissão das inflorescências e ao curto intervalo até a plena floração entre o início e a abscisão das sementes (Lopes; Franke, 2011a; Scheffer-Basso et al., 2007). Portanto, a produção de sementes de *Paspalum* spp. é um desafio complexo, com diversos estudos explorando estratégias para otimizar esse processo.

Investigando diferentes variáveis, como espaçamentos de semeadura e doses de nitrogênio, Pinto, Nabimger & Maraschin (1984) e Rosa (1984) alcançaram uma notável produtividade de 254,3 kg.ha<sup>-1</sup> de sementes puras viáveis no primeiro ano, com 75 kg N.ha<sup>-1</sup> e linhas espaçadas de 90 cm, destacando a importância de considerar múltiplos fatores na busca pela eficiência produtiva.

Ressaltando a relevância do manejo de cortes na Tailândia, Hare et al. (2001) observaram que cortes frequentes, especialmente no momento adequado, resultaram em maior produtividade de sementes. Complementando essas descobertas, Scheffer-Basso et al. (2007) concluíram que o manejo de corte antes da data de dferimento desempenha um papel crucial na produtividade, indicando a necessidade de estratégias bem planejadas.

O estudo de Bertoncelli (2018), focado em *P. notatum* cv. INIA Sepé, analisou a influência da adubação nitrogenada e épocas de corte. Curiosamente, a aplicação de cortes tardios permitiu uma maior produtividade em uma única colheita, enquanto cortes precoces possibilitaram múltiplas colheitas. Essa complexidade na escolha das estratégias evidencia a necessidade de abordagens adaptáveis para otimizar a produção dessas sementes (Bertoncelli, 2018).

Nesse cenário, a falta de estudos sobre manejo, rendimento e qualidade fisiológica de sementes de espécie do gênero *Paspalum* têm limitado sua multiplicação comercial (Pizarro, 2000).

### **1.5. Caracterização e avaliação de germoplasma**

O marco inicial nos trabalhos com recursos genéticos vegetais no início do século XX é atribuído ao eminente botânico russo Nikolai Ivanovich Vavilov, sendo o primeiro a compreender a importância e os benefícios potenciais proporcionados pela coleta de sementes de inúmeras espécies ao redor do mundo, além da organização dessas amostras em formas de coleções que, futuramente, seriam estruturadas em coleções de germoplasma em todo o mundo (Nass, 2001).

O termo germoplasma tem sido definido como todo material hereditário que é transmitido de uma geração para outra, além de ser o patrimônio genético da mesma (Cohen et al., 1991; Borém et al., 2017). Ou ainda, pode-se dizer também que é o conteúdo total de genes que servem de matéria-prima para o melhorista desenvolver diferentes culturas (Duvick, 1982), além de conter as informações para a composição genética de uma espécie, sendo um recurso natural valioso da diversidade de plantas (Nwachukwu et al., 2016). Esse patrimônio genético pode estar na forma de pólen, anteras, plantas, sementes, tecidos (meristemas ou calos), células ou estruturas simples (Allard, 1971; Williams, 1991). As coleções de germoplasma podem variar de coleções de espécies selvagens a linhagens de reprodução domesticadas e de elite que passaram por extensa seleção humana (Nwachukwu et al., 2016; Borém et al., 2017). O principal objetivo do banco de germoplasma é a preservação da diversidade genética de uma planta ou estoque genético específico para seu uso no futuro (Peefers & Calwey, 1988).

De posse do germoplasma, seja por meio de coleta, introdução ou intercâmbio entre programas e melhoristas, os procedimentos posteriores visam à caracterização

e avaliação. É importante ressaltar que as informações adequadas sobre o germoplasma em um programa de melhoramento são de grande valia. Essas informações são estritamente dependentes da avaliação e caracterização adequada da variabilidade genética presente nessas coleções. Para a formação da população-base, os melhoristas têm utilizado e recomendado o cruzamento entre cultivares superiores e divergentes (Pereira & Pereira, 2006).

Na atualidade, a caracterização, avaliação e conservação de recursos genéticos de espécies vegetais e animais são temas de grande relevância, sendo objetivos de um extenso número de estudos. Principalmente, busca-se quantificar a diversidade genética e compreender sua magnitude, natureza e distribuição (Cruz et al., 2020). Além da importância mencionada, o progresso genético em qualquer espécie está diretamente relacionado à existência de variabilidade genética (Faria et al., 2007).

Para tanto, o sucesso de qualquer programa de melhoramento depende da caracterização do germoplasma, a fim de quantificar a quantidade de variação presente na espécie de interesse e subsidiar a utilização dos recursos naturais (Souza, 2015). O autor destaca que, por meio desses conhecimentos, é possível incluir novos materiais de interesse no programa de melhoramento genético, além de estabelecer estratégias de conservação. De acordo com Valls (1988), a avaliação e caracterização do germoplasma envolvem cinco etapas, que são:

- i. Identificação: determinação precisa da origem e características do material genético;
- ii. Coleta e conservação: coleta, preservação e armazenamento apropriados do germoplasma;
- iii. Caracterização morfológica: análise das características físicas e estruturais das plantas ou animais;
- iv. Caracterização bioquímica: estudo das características químicas e metabólicas do germoplasma;
- v. Caracterização molecular: utilização de técnicas moleculares para investigar a estrutura genética e a diversidade do germoplasma.

Essas etapas são fundamentais para compreender e explorar a variabilidade genética existente no germoplasma e promover o avanço nos programas de melhoramento genético. Também é importante considerar o conhecimento do

ambiente de cultivo, o qual contribui para a seleção de genótipos mais adaptados a ambientes específicos (Camêlo et al., 2011). A caracterização do germoplasma tem como objetivo obter dados para descrever, identificar e diferenciar genótipos de uma mesma espécie (Burle & Oliveira, 2010). Existem diversas formas de caracterização, como a morfológica, citogenética, química, fisiológica, bioquímica e molecular (Salomão, 2010; Hill et al., 2013).

Entre essas formas de caracterização, a morfológica é a mais utilizada, pois é realizada por meio de mensurações e observação de caracteres denominados descritores morfológicos, que diferenciam taxonomicamente as plantas de uma mesma espécie (Bianco et al., 2011). A caracterização morfológica permite conhecer a variabilidade genética de uma determinada população, diferenciando as plantas de forma taxonômica e selecionando os descritores morfológicos mais relevantes para acessar a diversidade do germoplasma (Hernández-Villareal, 2013).

É importante ressaltar que os descritores devem ser de medição fácil e rápida, e devem se referir à forma, estrutura ou comportamento de uma população. O desenvolvimento de descritores é uma atividade essencial para compartilhar informações sobre recursos genéticos, sendo adotados como padrões na documentação do germoplasma. Esses descritores podem ser qualitativos ou quantitativos e são extremamente úteis para a gestão do banco de germoplasma e o uso dos acessos em programas de melhoramento genético (Barbieri & Castro, 2015).

Além dos descritores morfológicos, outros caracteres podem ser usados para descrever uma população, principalmente quando o objetivo do programa for obtenção de genótipos com aptidão forrageira. Nesse sentido, a avaliação de digestibilidade e qualidade nutricional podem contribuir para se obter informações sobre progenitores e/ou novos cultivares de maior valor nutritivo através da seleção genética (Queiroz et al., 2000). Outra característica importante é a análise em separado da folha e do colmo, já que animais em pastejo selecionam partes da planta para seu consumo, com preferência por folhas, justamente pelo seu maior valor nutritivo (Paciullo et al., 2001). Os descritores definidos para *Paspalum* abrangem *P. guenoarum*, *P. notatum*, *P. plicatulum* e híbridos (Brasil, 2020), sendo utilizados nos ensaios de Distinguibilidade, Homogeneidade e Estabilidade (DHE). Até o presente momento, nenhum descritor foi definido para *Paspalum lepton* e híbridos provenientes de cruzamentos artificiais.

## 1.6. Diversidade Genética

Diversidade genética pode ser definida como "qualquer medida quantitativa ou diferença genética, estando ao nível de sequência ou nível de frequência alélica, que é calculada entre indivíduos, populações ou espécies" (Beaumont et al., 1998; Nass, 2001; Mohammadi & Prasanna, 2003). Essa diversidade, por vezes, é chamada também de variabilidade genética (Allard, 1971) e é fundamental em todo programa de melhoramento de plantas (Cruz & Carneiro, 2003), principalmente nas fases iniciais do programa de melhoramento. Os cruzamentos envolvendo genitores geneticamente superiores e diferentes são mais convenientes para produzir alto efeito heterótico (Guimarães et al., 2007; Paterniani et al., 2008; Cruz et al., 2020), além da maior variabilidade genética em gerações segregantes (Rao et al., 1981; Buzar et al., 2007).

Melhoristas recomendam que, para a formação da população base, deve-se realizar o intercruzamento entre cultivares com desempenho superior e divergente entre si (Rinaldi et al., 2007). Para tanto, a população base para seleção deve conter ampla variabilidade genética com alta média para o caráter a ser selecionado (Maluf et al., 1983). Por outro lado, a diversidade insuficiente pode levar a espécie em questão a restringir sua distribuição geográfica e ser mais vulnerável à extinção sob nova pressão de seleção (Sheth & Angert, 2014), bem como em pequenas populações, com baixa diversidade, também podem apresentar níveis mais elevados de endogamia (Oleas et al., 2014).

Dada a importância da diversidade genética, espera-se que progenitores divergentes geneticamente proporcionem bons híbridos (Cruz et al., 2020). Essa expectativa baseia-se no fato de que a heterose manifestada em híbridos é função dos efeitos da dominância dos genes para o caráter em questão, bem como do quadrado da diferença das frequências gênicas de seus progenitores, além de efeitos epistáticos que geralmente são ignorados (Ghaderi et al., 1984; Falconer e Mackay, 1996).

Assim, torna-se relevante, além de prática rotineira dentro de programas de melhoramento genético, a avaliação genética de acessos e populações visando agrupar acessos semelhantes e redundantes, estimar a divergência genética entre eles e ordenar os melhores (Resende et al., 2014). Geralmente, os programas de melhoramento genético contam com grande número de acessos em seu banco de germoplasma. Logo, caracterizações desses acessos, para estudos de diversidade

genética entre eles e as estimativas de seus valores genotípicos, constituem valor prático de grande ordem, principalmente no processo de seleção de progenitores a serem avançados e/ou cruzados, visando a obtenção de genótipos superiores.

### **1.7. Estimação da diversidade genética**

A obtenção de uma medida de divergência genética que possa ser obtida antes que as hibridações sejam efetuadas permite ao melhorista concentrar esforços em combinações que apresentem maiores chances de sucesso (Maluf et al., 1983). A distância genética entre um grupo de futuros progenitores têm sido avaliada com o objetivo de indicar as combinações híbridas, com possível maior efeito heterótico e maior heterozigose (Hallauer et al., 2010; Cruz et al., 2012), estando diretamente relacionada ao grau de distanciamento entre os genótipos, linhagens e populações quanto ao conjunto de caracteres estudados (Oliboni et al., 2012).

Para Falconer (1989), com qualquer grau de dominância superior a zero, a heterose manifestada em um genótipo decorre da frequência alélica entre seus progenitores, possuindo associação positiva entre a distância genética e heterose. No entanto, estudos apontam a necessidade de um grau ótimo de distância entre os progenitores para máxima expressão da heterose (Paterniani & Lonnquist, 1963; Moll et al., 1965). Progenitores muito divergentes geneticamente podem apresentar características não desejáveis agronomicamente, tornando assim mais interessante o cruzamento entre indivíduos que apresentem bom desempenho e bases genéticas contrastantes para o caráter de interesse, ao invés de genitores simplesmente geneticamente distantes (Ghaderi et al., 1984). Sendo assim, o conhecimento da distância genética entre os genótipos é uma etapa fundamental em programas de melhoramento de qualquer espécie, permitindo orientar no processo de seleção para o avanço de gerações e ainda auxiliar na definição de cruzamentos promissores (Guimarães et al., 2007).

Segundo Cruz et al. (2020), há duas maneiras básicas de se inferir a diversidade genética, sendo a primeira de natureza quantitativa e a outra de natureza preditiva. Para essas inferências, tem-se utilizado dados de pedigree, morfológicos, bioquímicos (análise de isoenzimas e proteínas de reserva), dados moleculares, sendo estes mais confiáveis para diferenciação entre genótipos (Mohammadi & Prasanna, 2003; Sudre et al., 2007; Gonçalves et al., 2009).

Entre os métodos de natureza quantitativa, as análises dialélicas são utilizadas para avaliação da diversidade ou da heterose manifestada nos híbridos; já os métodos preditivos são geralmente quantificados por medidas de dissimilaridade (Cruz et al., 2020). Nesse contexto, a análise multivariada tem sido amplamente utilizada na predição da divergência genética, com destaque para os métodos de agrupamento ou aglomerativos, as análises de componentes principais e variáveis canônicas (Cruz et al., 2014; Guidoti et al., 2018). A escolha do método depende do objetivo do estudo, da precisão desejada pelo melhorista, da facilidade de análise e da forma como os dados são obtidos (Cruz et al., 2020).

As medidas de dissimilaridade constituem uma ferramenta importante para estimação da diversidade genética nas mais diversas culturas. Cruz et al. (2020) citam que os estudos da diversidade genética têm sido realizados a partir de informações das seguintes naturezas das medidas:

- i. Medidas de dissimilaridade obtidas de variáveis quantitativas contínuas ou discretas.
- ii. Medidas de dissimilaridade obtidas de variáveis qualitativas binárias.
- iii. Medidas de dissimilaridade obtidas de variáveis qualitativas multicategóricas.

Para obtenção da matriz de similaridade ou dissimilaridade, as medidas para caracteres quantitativos descritas a seguir, são as mais utilizadas nos estudos genéticos:

- i. Distância euclidiana

$$d_{ij} = \sqrt{\sum_j (Y_{ij} - Y_{ij})^2}$$

- ii. Quadrado da distância euclidiana

$$d_{ij}^2 = \sum_j (y_{ij} - y_{ij})^2$$

- iii. Distância euclidiana média

$$d_{ij} = \sqrt{\frac{1}{v} \sum_j (Y_{ij} - Y_{ij})^2}$$

- iv. Distância ponderada

$$d_{ij}^2 = \delta' \Delta \delta^{-1}$$

Em que  $d_{ij}^2$ , é distância ponderada entre os genótipos  $i$  e  $i'$ ;  $\Delta$  a matriz diagonal cujos elementos são as variâncias residuais;  $\sigma_j^2$  o quadrado médio do resíduo associado à  $j$ -ésima variável; e  $Y_{ij}$  é média do  $i$ -ésimo genótipo em relação à  $j$ -ésima variável.

v. Distância generalizada de Mahalanobis (Mahalanobis, 1936).

$$D_{ii'}^2 = \sum_j (Z_{ij} - Z_{i'j})^2$$

Quando a natureza dos caracteres for molecular ou qualitativa binária são recomendadas as seguintes medidas de similaridade de acordo com Cruz et al., (2020):

i. Coeficiente de coincidência simples

$$S_{ii'} = \frac{a+d}{a+b+c+d}$$

ii. Coeficiente de Roger e Tanimoto

$$S_{ii'} = \frac{a+d}{a + 2(b+c) + d}$$

iii. Coeficiente de Sokal e Sneath

$$S_{ii'} = \frac{2(a+d)}{2(a+d) + b + c}$$

iv. Coeficiente de Russel e Rao

$$S_{ii'} = \frac{a+d}{a+b+c+d}$$

v. Coeficiente de Jaccard

$$S_{ii'} = \frac{a}{a+b+c}$$

vi. Coeficiente de Sorenson ou Dice ou Nei & Li

$$S_{ii'} = \frac{2a}{2a+b+c}$$

vii.Coefficiente de Ochiai

$$S_{ii'} = \frac{a}{\sqrt{(a + b)(a + c)}}$$

viii.Coefficiente de Baroni, Urbani e Buser

$$S_{ii'} = \frac{a + ad}{a + b + c + ad}$$

ix.Coefficiente de Haman

$$S_{ii'} = \frac{(a + d) - (b + c)}{a + b + c + d}$$

x.Coefficiente de Yule

$$S_{ii'} = \frac{ad - bc}{ad + bc}$$

xi.Coefficiente de Ochiai II

$$S_{ii'} = \frac{ad}{\sqrt{(a + b)(a + c)(b + d)(c + d)}}$$

Caracteres multicategóricos, comumente avaliados no melhoramento vegetal, são relacionados a particularidades morfológicas, estruturais e qualidade do produto comercializado (Cruz et al., 2020). Para esses tipos de dados, os seguintes métodos são utilizados:

- i. Coincidência simples
- ii. Dissimilaridade de Cole-Rodgers et al. (1997)
- iii. Distância euclidiana média ponderada

No melhoramento de plantas, as medidas mais usuais são a distância euclidiana média e a distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ ) (Cruz et al. 2014). Além disso, a medida de Gower (1971) é utilizada para obtenção da dissimilaridade entre indivíduos a partir da análise conjunta de variáveis binárias, quantitativas e multicategóricas (Cruz et al., 2020; Cruz & Regazzi, 2020). A fórmula geral dessa medida considera pesos para as comparações entre indivíduos e contribuições das variáveis na similaridade entre eles. Em que a expressão geral é

$$S_{ijk} = \frac{\sum_{k=1}^v W_{ijk} C_{ijk}}{\sum_{k=1}^v W_{ijk}}$$

Em que  $S_{ijk}$  é similaridade entre os indivíduos  $i$  e  $j$ , para a variável  $k$ ;  $w_{ijk}$  o peso dado à comparação entre os indivíduos  $i$  e  $j$ , para a variável  $k$ , atribuindo valor 1 para as comparações válidas e 0 para as comparações inválidas pela falta de informação em pelo menos um indivíduo do par de comparação;  $C_{ijk}$  a contribuição da variável  $k$  na similaridade entre os indivíduos  $i$  e  $j$ .

### **1.8. Análise de agrupamento (AA)**

Análise de agrupamento ou de conglomerados ("cluster analysis") é a denominação atribuída a um conjunto de técnicas multivariadas que têm como finalidade agrupar indivíduos com base em características comuns (Chatfield & Collins, 1986; Hair et al., 2005), fornecendo, assim, critérios objetivos para garantir homogeneidade dentro dos grupos e heterogeneidade entre os grupos (Johnson & Wichern, 1992; Cruz et al., 2014; Vicini et al., 2018). Portanto, é um dos métodos multivariados mais utilizados, especialmente quando se busca padrões nos conjuntos de dados (Silva, 2016). Podemos considerar que essa técnica é puramente exploratória, pois visa à geração de hipóteses sobre o padrão de aglomeração estabelecido e pode ser complementada por outras técnicas de visualização (Manly & Alberto, 2008; Vicini et al., 2018), não sendo necessária qualquer hipótese acerca da distribuição de probabilidade dos dados (Cruz et al., 2020). Devido ao poder discriminatório e à versatilidade dos métodos de agrupamento, eles têm sido amplamente utilizados nas mais variadas áreas da ciência (Everitt, 1993; Siegmund et al., 2004). Essa análise utiliza métodos simples, envolvendo basicamente duas etapas (Vicini et al., 2018): a primeira relaciona-se com a estimativa de uma medida de similaridade ou dissimilaridade entre os genótipos, e a segunda está relacionada à adoção de uma técnica de agrupamento para a formação dos grupos (Sant'Anna & Malinovski, 2002; Cruz et al., 2014).

Três abordagens de agrupamento podem ser destacadas. A primeira delas, e a mais comumente utilizada, envolve técnicas que produzem dendrogramas. O

primeiro passo é a obtenção de uma medida de similaridade ou dissimilaridade, conforme mencionado anteriormente, entre todos os pares possíveis de acessos e, assim, formar grupos por meio de processos aglomerativos ou divisivos. A segunda abordagem envolve partições em um grupo em que os genótipos podem mover-se para fora ou para dentro deste e de outros grupos em diferentes estágios da análise. Por último, existem as técnicas baseadas em dispersão gráfica, que consideram as posições relativas dos genótipos em gráficos bidimensionais ou tridimensionais (Cruz et al., 2020).

Dentre os métodos de agrupamento mais utilizados no melhoramento genético de plantas, destacam-se os métodos de otimização e os hierárquicos (Manly & Alberto, 2008). No agrupamento por meio dos métodos de otimização, é necessária a matriz de dissimilaridade para criar um grupo inicial por meio de um par de indivíduos mais similares. A entrada de um novo genótipo no grupo aumenta o valor médio da distância dentro do grupo. No método hierárquico, a cada entrada de acesso no grupo, é necessário recalcular o coeficiente de similaridade entre os grupos (Cruz et al., 2020). Ambos os métodos podem ser utilizados complementarmente, ilustrando com maior coerência a diversidade genética do germoplasma estudado (Steiner et al., 2022).

Nos métodos de otimização, o mais comumente usado é o método de Tocher, citado por Rao (1952), o qual adota um único critério de agrupamento e apresenta uma distância média intragrupos sempre menor que a distância média intergrupos (Vasconcelos et al., 2007). Nos métodos hierárquicos, os genótipos são agrupados em um processo que se repete em vários níveis, até que seja estabelecido o diagrama de árvore ou dendrograma (Manly & Alberto, 2008; Cruz et al., 2020). No germoplasma vegetal, os métodos mais comumente usados são o do vizinho mais próximo, vizinho mais distante, Ward e da ligação média entre grupos (UPGMA - Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages). Outros métodos também podem ser utilizados, como o método do centroide, o método da WPGMC e o método da variância mínima de Ward (Cruz & Regazzi, 2020). De acordo com Cruz et al. (2020), o método UPGMA é um dos mais utilizados no melhoramento de plantas devido às menores distorções na representação das dissimilaridades entre os indivíduos.

Geralmente, após a obtenção da medida de dissimilaridade e a escolha do método de agrupamento, o próximo passo é a obtenção do diagrama de árvore ou dendrograma. A escolha do melhor método fica a critério do pesquisador, que

geralmente opta pelo que melhor representa a estrutura de agrupamento desejada, utilizando como auxílio nessa decisão o coeficiente de correlação cofenética, valores de distorção e estresse (Cruz et al., 2020). Para o coeficiente de correlação cofenética (CCC), é recomendado um valor acima de 0,70, visando à adequação do método de agrupamento à matriz de dissimilaridade (Streck et al., 2017). Por fim, para os parâmetros de distorção e estresse, esses devem ser preferencialmente inferiores a 20% para serem considerados satisfatórios para a representação gráfica (Cruz et al., 2020).

### **1.9. Análise de componentes principais (PCA) e variáveis canônicas (AVC)**

A análise de componentes principais ("principal component analysis") foi proposta por Pearson (1901), e muitos anos depois, Hotelling (1933, 1936) apresentou uma descrição de métodos computacionais práticos aplicados em diversas áreas da ciência. A técnica PCA também é chamada de transformada discreta de Karhunen-Loève (KLT) ou ainda transformada de Hotelling, em homenagem respectivamente a Kari Karhunen, Michel Loève e Harold Hotelling (CONCI et al., 2008). Embora alguns autores tratem a PCA e a transformada de Hotelling como um mesmo método, outros consideram um método derivado da PCA apresentada por Pearson (CONCI et al., 2008). É um dos métodos multivariados mais simples e mais utilizados, principalmente na biometria, sendo considerada uma ferramenta importante no melhoramento genético (Campana et al., 2010; Hongyu, Sandanielo & Oliveira Junior, 2016; Silva, 2016). Para Souza (1988), essa técnica representa o método básico do qual originam-se outros procedimentos multivariados. Já Johnson & Wichern (1992) apontam que a PCA funciona como uma análise intermediária, portanto, adequando-se mais como um meio do que um fim em si. Essa técnica vem sendo estudada por autores como Morrison (1976), Seber (1984), Reinsel (1993), Jackson (1981) e Johnson & Wichern (1992, 1998).

A PCA tem por objetivo encontrar um conjunto de combinações lineares que permita observar a maior variação dos dados, procurando explicar a estrutura de variância-covariância através de poucos componentes lineares das variáveis originais (Johnson & Wichern, 1992). Sendo assim, o primeiro componente (PC1) é a combinação linear de maior variância, pois é a dimensão na qual as variáveis estão dispersas ao máximo. O segundo componente principal (PC2) é a combinação com

maior variância que seja ortogonal ao primeiro componente. Portanto, a análise de componentes principais visa a simplificação estrutural da variação dos dados, por meio da transformação de um conjunto original de variáveis em outro conjunto denominado componentes principais; as variáveis originais e os componentes principais têm a mesma dimensão (Chatfield & Collins, 1980; Cruz et al., 2014). Geralmente, é empregada em situações em que o melhorista possui um número elevado de caracteres em estudo, sendo possível que muitos contribuam pouco para a discriminação dos genótipos a serem selecionados, representando, consequentemente, aumento no trabalho de caracterização, sem melhoria na precisão, tornando assim mais complexa a análise e interpretação dos dados (Liberato et al., 1999; Silva et al., 2005a; Barbosa et al., 2006). Essa análise pode revelar relações não identificadas previamente, contribuindo para melhor interpretação dos dados (Baker et al., 1988; Roso & Fries, 1995). Cabe ressaltar que a análise de componentes principais nem sempre funciona, no sentido de que um grande número de variáveis originais é reduzido a um pequeno número de variáveis transformadas, principalmente se as variáveis originais não forem correlacionadas (Manly & Alberto, 2016).

Por fim, pode-se dizer que a análise de componentes principais é amplamente empregada em estudos da predição de divergência genética (Cruz et al., 1994; Abreu et al., 1999; Fonseca et al., 2006; Wagner Júnior et al., 2011), em estudos de repetibilidade (Abeywardena, 1972; Bonomo et al., 2004; Ferreira et al., 2010), em estudos de interação genótipo x ambiente (Rocha et al., 2005; Nascimento et al., 2009; Barros et al., 2010). Sendo assim, é extremamente viável em estudos sobre divergência genética, pela possibilidade de resumir o conjunto de variáveis originais em poucos componentes, o que significa ter uma aproximação do comportamento dos indivíduos (genótipos), oriundos de um espaço n-dimensional ( $n =$  número de caracteres estudados) em um espaço bi ou tridimensional (Cruz & Regazzi, 1994). Os indivíduos avaliados podem ser representados em um gráfico cartesiano bidimensional, sendo os eixos constituídos pelos escores, geralmente, dos dois primeiros componentes (Abreu et al., 1999). A variabilidade manifestada nos genótipos estudados é explicada satisfatoriamente quando os primeiros componentes acumularem uma porcentagem alta de variação total, em geral, acima de 80%, conduzindo assim à interpretação do fenômeno com considerável simplificação (Wagner Júnior et al., 2011; Paiva et al., 1994). Essa técnica foi utilizada em *Paspalum*

por Strapasson et al. (2000) onde selecionou descritores para a caracterização de acessos das espécies *P. guenoarum* e *P. plicatulum*, eliminando aqueles considerados redundantes. Sendo ainda incipiente o conhecimento dessa técnica para *P. lepton*, principalmente através dos descritores recentemente propostos por Brasil (2020).

A análise de variáveis canônicas (AVC) foi proposta por Fisher (1936) quando pesquisava caracteres morfológicos para classificar espécies do gênero *Iris* L. Essa técnica se assemelha à análise de componentes principais de acordo com Rao (1952), citado por Cruz et al. (2020), por ter o propósito de identificar grupos similares de indivíduos em dimensões reduzidas (duas ou três); além disso, visa condensar um complexo de múltiplas variáveis em duas ou três variáveis canônicas oriundas de combinações lineares das primeiras (Dias et al., 1997; Veloso et al., 2016; Flores et al., 2020). A análise de variáveis canônicas é preferível quando se utiliza um delineamento experimental, ou seja, quando há repetições em cada tratamento (Nóbrega et al., 2021). Portanto, a AVC apresenta vantagem em relação à PCA, por levar em consideração tanto a matriz de covariância residual quanto a de covariância (ou correlação) fenotípica, que exerce, de certa forma, um efeito de ponderação sobre a primeira (Cruz et al., 2020). Esses autores ressaltam que a AVC apresenta a vantagem adicional de manter o princípio do processo de agrupamento com base na distância de Mahalanobis ( $D^2$ ), o qual leva em conta as correlações residuais existentes entre as médias dos genótipos.

### **1.10. Associações entre caracteres**

O coeficiente de correlação ( $\rho$ ) é uma medida padronizada da associação entre variáveis e tem como objetivo comparar a variância da variável dependente X com a redução da variância dessa variável quando uma variável independente Y é utilizada para estimar os valores de X (Steel & Torrie, 1980). Em termos simples, pode-se dizer que a correlação é uma medida da intensidade da associação linear entre dois caracteres ou uma medida do grau de variação conjunta (Ramalho et al., 2021). Enquanto o coeficiente de regressão explica a relação de dependência ou causa e efeito, o coeficiente de correlação é apenas descritivo da relação mútua entre os caracteres. É um número sem unidades com amplitude que varia de -1 (relação linear perfeita negativa) a 1 (relação linear perfeita positiva), onde zero indica ausência de

associação linear (Carvalho et al., 2004). Um coeficiente de correlação igual a zero não implica em falta de associação entre dois caracteres, apenas reflete a ausência de relação linear (Cruz et al., 2012).

Para uma correta interpretação das correlações entre caracteres, é importante considerar tanto a magnitude quanto o sinal (Cruz, 2012). A magnitude indica a existência de uma relação linear entre os caracteres e será maior quanto mais o coeficiente se aproximar de -1 ou 1 (Carvalho et al., 2004). O sinal, por sua vez, indica se os caracteres variam no mesmo sentido (coeficiente positivo) ou em sentidos opostos (coeficiente negativo). Os coeficientes de correlação são apropriados para avaliar a associação entre características porque são adimensionais e permitem a comparação entre diferentes pares de características, ao contrário das covariâncias (Gonçalves et al., 2008).

A associação entre caracteres pode ser utilizada como critério de seleção indireta, que é aplicada a um caráter secundário, não sendo o caráter principal a ser melhorado. O estudo das correlações entre caracteres é de grande importância no melhoramento genético, uma vez que geralmente o aprimoramento de uma determinada população ou cultivar é direcionado para um conjunto de caracteres simultaneamente (Vencovsky & Barriga, 1992). Essa é uma medida que permite direcionar as estratégias de melhoramento, visando maximizar os ganhos genéticos por meio de ciclos de seleção (Farias Neto et al., 2005). Além disso, é fundamental compreender como o aprimoramento de uma característica pode afetar outras (Bennin et al., 2005). Para que a seleção indireta por meio da correlação seja eficiente, Falconer (1996) elenca as seguintes condições:

- i) a herdabilidade do caráter selecionado deve ser maior do que a do caráter que se pretende melhorar;
- ii) a correlação genética entre os dois caracteres deve ser alta;
- iii) a intensidade de seleção do caráter secundário deve ser maior do que a intensidade de seleção do caráter de interesse.

Entretanto, o mesmo autor afirma que a seleção indireta será mais eficiente do que a seleção direta apenas em casos em que existam dificuldades técnicas para a aplicação da seleção direta no caráter de interesse a ser melhorado.

O conhecimento da associação entre caracteres é de grande importância no melhoramento de qualquer espécie, especialmente quando a seleção direta no caráter de interesse apresenta dificuldades devido à baixa herdabilidade ou problemas de mensuração, especialmente em características quantitativas que são difíceis de serem melhoradas por seleção (Carpentieri-Pípolo et al., 2005; Almeida et al., 2010). Assim, as associações observadas entre os caracteres quantificam a possibilidade de ganhos indiretos por meio da seleção, onde caracteres de baixa herdabilidade têm uma seleção mais eficiente quando realizada em caracteres que estão correlacionados a eles ou que apresentam maior herdabilidade e facilidade de mensuração (Goldenberg, 1968). Para isso, no melhoramento de plantas, Falconer & Mackay (1996) distinguem duas causas de correlação entre dois caracteres: genética e ambiental.

Dessa forma, a correlação entre caracteres é baseada na mensuração do fenótipo e é influenciada por duas causas: a causa genética e a causa ambiental (Falconer, 1989). O fenótipo é a expressão visível ou mensurável de um caráter e é determinado pela constituição genética (genótipo) juntamente com o efeito do ambiente, ou seja, Fenótipo ( $F$ ) = Genótipo ( $G$ ) + Ambiente ( $A$ ). Portanto, a correlação fenotípica refere-se à correlação entre duas características causadas por fatores genéticos e ambientais (Falconer & Mackay, 1996). Essa estimativa é uma ferramenta útil, pois permite avaliar a viabilidade do uso da seleção indireta. No entanto, seu uso pode levar a erros, tornando sua aplicabilidade prática reduzida (Carvalho et al., 2004).

Se o caráter principal possui baixa herdabilidade, a correlação fenotípica é determinada principalmente pela correlação ambiental. Por outro lado, se o caráter apresenta alta herdabilidade, a correlação fenotípica é decorrente da correlação genética (Falconer & Mackay, 1996). É importante distinguir as causas genéticas e ambientais, que, combinadas, resultam na correlação fenotípica.

A correlação genética é determinada exclusivamente pelo genótipo, sem intervenção do ambiente (Carvalho et al., 2004), e busca explicar, por meio de mecanismos genéticos, a variação conjunta de dois caracteres, desconsiderando os efeitos do ambiente (Ramalho et al., 2012). Para o melhoramento genético de plantas, essa é a correlação mais importante, especialmente em situações que envolvem caracteres de herança complexa, controlados por vários genes e com grande influência do ambiente (Falconer, 1989). Ela se torna relevante na seleção

simultânea/truncada de mais de um caráter, e seu sinal e magnitude determinam a direção da resposta correlacionada em uma associação de natureza herdável (Carvalho et al., 2004).

Duas causas são atribuídas à correlação genética: a primeira resulta do pleiotropismo (causa principal) ou da ligação gênica (causa temporária) (Falconer & Mackay, 1996). O pleiotropismo ocorre quando um único gene afeta simultaneamente dois ou mais caracteres (Carvalho et al., 2004; Ramalho et al., 2012). Assim, quando um gene afeta a expressão de dois caracteres, aumentando ambos simultaneamente, as correlações são positivas. Por outro lado, quando o aumento de um caráter está associado à diminuição de outro, as correlações são negativas (Falconer, 1989). Já a segunda causa de correlação genética, de natureza temporária, ocorre devido à quebra de blocos de ligação, especialmente em populações resultantes de cruzamentos entre genótipos contrastantes (Carvalho et al., 2004). Isso ocorre quando os genes que afetam os caracteres estão localizados no mesmo cromossomo e muito próximos entre si (Ramalho et al., 2012). A ligação gênica é uma força que mantém juntas as combinações genéticas preexistentes e tem a tendência de preservar em conjunto as combinações favoráveis existentes, sendo essa a causa da correlação genética entre caracteres que apresentam ligação gênica (Allard, 1999; Falconer, 1989).

O ambiente é definido como todas as condições externas, não genéticas, que influenciam um determinado caráter (Carvalho et al., 2004). Segundo esses mesmos autores, a correlação ambiental é altamente dependente do caráter e do organismo estudado, sendo a principal fonte de erro que reduz a precisão das estimativas genéticas. O ambiente se torna uma causa de correlação entre dois caracteres quando ambos são influenciados pelas mesmas variações nas condições ambientais. Além disso, a correlação ambiental inclui desvios ambientais e efeitos genéticos não aditivos (Falconer, 1989).

Cruz & Regazzi (1997) apontam que correlações ambientais negativas indicam que o ambiente favorece um caráter em detrimento do outro. Por outro lado, um sinal positivo indica que ambos os caracteres são favorecidos ou prejudicados pelas mesmas variações ambientais. É importante destacar que as correlações genéticas e ambientais podem apresentar magnitudes, sentidos e direções diferentes. Nessas circunstâncias, as causas das variações genéticas e ambientais afetam os caracteres por meio de diferentes mecanismos fisiológicos (Falconer, 1989).

Os coeficientes de correlação fenotípica, genotípica e ambiental entre dois caracteres são obtidos por meio de análises individuais, utilizando o modelo estatístico apropriado e a análise da soma dos valores dos caracteres X e Y. A covariância associada a cada fonte de variação é calculada, e os componentes de covariância são estimados através da esperança matemática do produto médio das fontes de variação ou das esperanças dos respectivos quadrados médios da análise de variância (Cruz et al., 2012). Conforme esses autores, os produtos médios são calculados utilizando as estimativas dos quadrados médios obtidos na análise de variância, pela soma de X e Y, fornecendo o valor  $Z = X + Y$ . As estimativas das variâncias fenotípicas, genotípicas e ambientais são obtidas seguindo as metodologias propostas por Vencovsky & Barriga (1992) e Ramalho et al. (2012) em que:

$$\sigma_f^2(X) = \frac{QMT(X)}{r}$$

$$\sigma_f^2(Y) = \frac{QMT(Y)}{r}$$

$$\sigma_g^2(X) = \frac{QMT(X) - QMR(X)}{r}$$

$$\sigma_g^2(Y) = \frac{QMT(Y) - QMR(Y)}{r}$$

$$\sigma_a^2(X) = \frac{QMR(X)}{r}$$

$$\sigma_a^2(Y) = \frac{QMR(Y)}{r}$$

Dessa forma,  $\sigma_f^2(X)$  = variância fenotípica de X;  $\sigma_f^2(Y)$  = variância fenotípica de Y;  $\sigma_g^2(X)$  = variância genética de X;  $\sigma_g^2(Y)$  = variância genética de Y;  $\sigma_a^2(X)$  = variância de ambiente de X;  $\sigma_a^2(Y)$  = variância de ambiente de Y. Já as estimativas de covariâncias fenotípicas, genotípicas e ambientais são obtidas da seguinte forma:

$$COV_{f(XY)} = \frac{QMT_{(XY)} - QMT_{(X)} - QMT_{(Y)}}{2}$$

$$COV_{g(XY)} = (COV_{f(XY)} - COV_{a(XY)})$$

$$COV_{a(XY)} = \frac{QMR_{(XY)} - QMR_{(X)} - QMR_{(Y)}}{2}$$

Onde  $\text{COV}_{f(XY)}$ = covariância fenotípica de XY;  $\text{COV}_{g(XY)}$ = covariância genética de XY e  $\text{COV}_{a(XY)}$ = covariância de ambiente de XY. A partir das estimativas das variâncias e covariâncias, pode-se estimar as correlações fenotípicas ( $r_{f(XY)}$ = correlação fenotípica de XY), genotípicas ( $r_{g(XY)}$ = correlação genotípica de XY) e ambientais ( $r_{a(XY)}$ = correlação ambiental de XY), conforme as seguintes fórmulas:

$$r_{f(XY)} = \frac{\text{COV}_{f(XY)}}{\sqrt{\sigma_f^2(X) \cdot \sigma_f^2(Y)}}$$

$$r_{g(XY)} = \frac{\text{COV}_{g(XY)}}{\sqrt{\sigma_g^2(X) \cdot \sigma_g^2(Y)}}$$

$$r_{a(XY)} = \frac{\text{COV}_{a(XY)}}{\sqrt{\sigma_a^2(X) \cdot \sigma_a^2(Y)}}$$

Conforme observado, a correlação fenotípica não é obtida pela soma algébrica das correlações genéticas e ambientais, como mencionado por Ramalho et al. (2012). Cada tipo de correlação (fenotípica, genotípica e ambiental) é estimada independentemente. Quanto à significância das correlações, a estatística t é utilizada para testar a hipótese de que o coeficiente de correlação seja igual a zero. Esse teste estatístico, conforme descrito por Steel & Torrie (1980), é aplicado para testar a hipótese de o coeficiente de correlação ser igual a zero.

### 1.11. Análise de trilha

A existência de correlação fenotípica e genética permite avaliar o quanto da alteração de um caráter pode afetar os demais no decorrer da seleção, além de ser de grande importância no melhoramento de plantas (Furtado et al., 2002). No entanto, quando um grande número de caracteres está mutuamente correlacionado, o coeficiente de correlação produz uma informação incompleta, devido principalmente à influência de uma terceira ou mesmo de um grupo de variáveis sobre os dois caracteres em questão (Scapim et al., 2010; Rios et al., 2012).

Com o intuito de contornar os problemas da correlação, o geneticista Wright (1921, 1923) desenvolveu a análise de trilha ou "path analysis". Porém, somente anos depois esse método foi proposto para plantas por Dewey & Lu (1959). Essa análise consiste no desdobramento dos coeficientes de correlações em efeitos diretos e indiretos, permitindo medir a influência direta de uma variável sobre a outra (Silva et al., 2020). De acordo com Cruz et al. (2012), as estimativas dos efeitos diretos e indiretos são obtidas por meio de equações de regressão, em que as variáveis são previamente padronizadas, com o intuito de determinar o efeito direto de uma variável independente (x) sobre uma variável dependente (y), após a remoção da influência de todas as outras variáveis independentes ( $x_i$ ) incluídas na análise (Wright, 1921; Carvalho et al., 2004; Cruz et al., 2012). Assim, a análise de trilha tem sido utilizada por melhoristas para auxiliar na identificação de caracteres que possam ser úteis como critérios de seleção para o rendimento de grãos via seleção indireta (Caierão et al., 2001). A seleção indireta através de caracteres menos complexos, com maior herdabilidade e de fácil mensuração, poderá resultar em maiores progressos genéticos em relação ao uso de seleção direta, conforme supracitado (Kurek et al., 2001).

Em relação a interpretação de uma análise de causa e efeito, Singh & Chandhary (1979) apontam como essenciais os seguintes pontos:

- i. Se o coeficiente de correlação entre o fator causal (variável explicativa) e o efeito (variável dependente) for igual ou semelhante ao seu efeito direto, a correlação explica a verdade associação entre os caracteres. Sendo eficiente a seleção direta para melhorar a variável dependente via o fator causal.
- ii. Se o coeficiente de correlação for positivo, mas o efeito direto for negativo ou de baixa magnitude, os efeitos indiretos são as possíveis causas de correlação. Sendo considerado, nesse caso, simultaneamente na seleção os efeitos causais indiretos.
- iii. Se o coeficiente de correlação for negligível e o efeito direto for positivo e alto, os efeitos indiretos são responsáveis pela falta de correlação. Nessa situação, os fatores causais indiretos deverão merecer atenção na seleção.
- iv. Se o coeficiente de correlação entre um fator causal e Y for pronunciadamente negativo, mas o efeito direto positivo e alto, devemos aplicar um modelo de seleção restritiva, a fim de minimizar os efeitos indiretos indesejáveis e melhor aproveitar o efeito direto.

Para se obter os coeficientes de trilha, pode-se usar tanto a correlação fenotípica quanto a correlação genética (Carvalho et al., 2004). Segundo Cruz et al. (2012), o coeficiente de determinação do modelo da análise de trilha indica a proporção da variação explicada em relação à variação total. Esse coeficiente indica se os caracteres analisados são suficientes para explicar a variável dependente estudada; os efeitos diretos e indiretos, quando considerados importantes, devem superar o valor do efeito da variável residual, validando assim o modelo (Silva et al., 2020).

A análise de trilha tem sido utilizada diversos estudos, nas mais variadas culturas, como batata doce (*Pomoea batatas*) (Miranda et al., 1988), arroz (*Oryza sativa*) (Gravois & Helms, 1992; Kole et al., 2008; Saha et al., 2019), feijão guandu (*Cajanus cajan*) (Santos et al., 1994), feijão comum (*Phaseolus vulgaris L.*) (Coimbra et al., 1999; Kurek et al., 2001), milho (*Zea mays*) (Furtado et al., 2002; Crevelari et al., 2018; Kamphorst et al., 2019; Akaogu et al., 2020), milho superdoce (Entringer et al., 2014), milho para silagem (Crevelari et al., 2020), aveia branca (*Avena sativa L.*) (Caierão et al., 2001), trevo vermelho (*Trifolium pratense L.*) (Montardo et al., 2003), trigo (Silva et al., 2005b; Vieira et al., 2007), algodão (*Gossypium hirsutum*) (Hoogerheide et al., 2007), cabaça pontiaguda (*Trichosanthes dioica Roxb*) (Khan et al., 2009), trevo branco (*Trifolium repens L.*) (Lopes & Frank, 2009), batata (*Solanum tuberosum L.*) (Silva et al., 2009), soja (*Glycine max (L.) Merrill*) (Nogueira et al., 2012; Ebene et al., 2020), trigo duro (*Triticum durum Desf.*) (Hannachi et al., 2013), maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis Sims*) (Lúcio et al., 2013), jaboticabeira (*Plinia cauliflora*) (Salla et al., 2015), mamoeiro (*Carica papaya L.*) (Silva et al., 2016), berinjela (*Solanum melongena L.*) (Bende et al., 2019), Lisanto (*Eustoma grandiflorum (Raf.) Shinn.*) (Kuronuma et al., 2020), grão-de-bico (Chrigui et al., 2021), beterraba (*Beta vulgaris L.*) (Mekdad et al., 2021), em grama-forquilha (*Paspalum notatum Flügge*) (Lopes & Frank, 2009) e em Trevo-vesiculoso (*Trifolium vesiculosum Savi*) (Araldi et al., 2021). Porém, em *Paspalum lepton*, essa técnica ainda não foi utilizada, e, devido a sua ampla utilização, pode ser uma ferramenta útil como critério de seleção, principalmente visando o rendimento de sementes via seleção indireta.

### **1.12. Coeficiente de repetibilidade ( $\hat{p}$ )**

Uma das dificuldades no melhoramento genético de plantas é a determinação do número de avaliações necessárias para estimar, com precisão, as diferenças entre os genótipos estudados (Vencovsky, 1973; Oliveira & Fernandes, 2001). A determinação do número de mensurações necessárias para estimar as diferenças entre os genótipos estudados com precisão é uma das peculiaridades dentro do melhoramento genético de plantas forrageiras (Toebe et al., 2020). Especialmente em forrageiras perenes, onde os experimentos ocupam grandes áreas ao longo de vários anos, como é o caso das espécies do gênero Paspalum, onde são necessárias avaliações por meio de cortes periodicamente. Portanto, as estimativas do coeficiente de repetibilidade ( $\hat{\rho}$ ) dos caracteres estudados são importantes na concepção e nas demais fases do programa de melhoramento, uma vez que permitem verificar se a superioridade de alguns genótipos é mantida ao longo dos anos ou se era oriunda de uma condição ambiental transitória (Laviola et al., 2013; Chaves et al., 2018). Essa análise permite a redução do tempo experimental, dos custos e da mão de obra, otimizando o processo no lançamento de novas cultivares (Torres et al., 2015; Rodrigues et al., 2020). Além disso, pode ser aplicado tanto em caracteres quanto na determinação do número mínimo de ensaios necessários para que as avaliações sejam consistentes, com uma determinada precisão (Benin et al., 2014). Além dessas aplicações, pode ser utilizado no estudo do aumento da eficiência seletiva com o aumento do número de avaliações por indivíduo (Resende, 2002). Portanto, podemos definir a repetibilidade como a correlação fenotípica entre medidas repetidas no mesmo indivíduo (Lush, 1937).

Após a coleta de dados, é possível, em um grupo de genótipos, determinar se a superioridade ou inferioridade inicial de um indivíduo em relação aos demais se mantém ao longo das avaliações (Martuscello et al., 2007). Através de avaliações sucessivas, é possível estimar o coeficiente de repetibilidade ( $\hat{\rho}$ ) dos caracteres estudados, permitindo avaliar a probabilidade de que aquele resultado se repita em futuras avaliações. Além disso, é possível determinar o número mínimo de avaliações necessárias para prever, com confiabilidade, o comportamento dos genótipos estudados (Souza-Sobrinho et al., 2004; Souza-Sobrinho et al., 2010).

Em programas de melhoramento, o coeficiente de repetibilidade pode responder a uma pergunta frequente durante o processo de seleção: “qual é a capacidade do genótipo de repetir a expressão do caráter estudado em avaliações sucessivas?” Conforme Cruz et al. (2004), espera-se que a superioridade do genótipo

selecionado perdure ao longo de sua vida. Portanto, o coeficiente de repetibilidade tem como objetivo determinar o número de medições necessárias em um genótipo ao longo de vários anos para prever seu valor real com um certo grau de confiabilidade (Resende, 2002). Esse número necessário para a previsão do valor real do genótipo é aquele em que os efeitos temporários do ambiente tendem a ser nulos ou minimizados a um valor aceitável (Cargnelutti Filho et al., 2004). Isso garante a identificação segura da superioridade genotípica com o mínimo de custo e mão de obra (Falconer & Mackay, 1966; Cardoso, 2006), bem como a eficiência da seleção fenotípica entre os genótipos (Cruz et al., 2012).

Complementarmente, a repetibilidade fornece o valor máximo que a herdabilidade no sentido amplo pode atingir, uma vez que expressa a proporção da variância fenotípica atribuída às diferenças genéticas confundidas com os efeitos permanentes de ambiente que atuam sobre o genótipo (Botrel et al., 2000; Ferreira et al., 2005). Em termos práticos, quando o coeficiente de estimativa da repetibilidade é alto, a seleção baseada em apenas uma ou poucas observações será eficiente. Por outro lado, quando o valor desse coeficiente é baixo, é necessário calcular a média de várias observações para alcançar a mesma eficiência de seleção (Turner & Young, 1969; Cornacchia et al., 1995). Altos valores do coeficiente de repetibilidade indicam que há pouco ganho em precisão com o aumento do número de medidas repetidas (Falconer & Mackay, 1987).

A repetibilidade varia de acordo com a natureza do caráter, as propriedades genéticas da população (como clones, famílias de meios-irmãos, famílias de irmãos completos, etc.) e as condições ambientais em que os genótipos são mantidos (Cruz et al., 2005). As estimativas do coeficiente de repetibilidade ( $\hat{p}$ ) variam de zero a um, sendo um a repetibilidade máxima, observada quando um dos caracteres se manifesta com muita constância (Cruz et al., 2012). A interpretação desse coeficiente pode ser realizada com base na seguinte classificação proposta por Resende (2002; 2015): repetibilidade alta ( $r>0,60$ ), repetibilidade média ( $0,30<r<0,60$ ) e repetibilidade baixa ( $r<0,30$ ). Muitas espécies e seus caracteres peculiares foram estudados, no entanto, ainda são necessárias informações sobre a repetibilidade em espécies do gênero *Paspalum*, especialmente em relação a caracteres relacionados à produção de sementes.

Para a estimação do coeficiente de repetibilidade, vários métodos são propostos, cada um com suas particularidades, que são descritos detalhadamente por

Cruz et al. (2012). Um método comumente utilizado é a análise de variância, que é indicada para avaliar g genótipos em n medidas repetidas pelo método dos quadrados mínimos (Cruz & Regazzi, 1997). Outros métodos baseados em componentes principais são adequados quando os genótipos apresentam um comportamento cíclico ao longo das avaliações e não atendem aos pressupostos de homogeneidade de variância e distribuição aleatória dos resíduos (Abeywardena, 1972; Rutledge, 1974). O método de análise estrutural, baseado na matriz de correlações, é mais recomendado quando as variâncias nas diversas medições não são homogêneas (Mansour et al., 1981). Em relação à análise estatística, o coeficiente de repetibilidade pode ser estimado seguindo a abordagem proposta por Cruz & Regazzi (1997), considerando um i-ésimo indivíduo no j-ésimo tempo:

$$Y_{ij} = \mu + (G_i + E_p + GE_p) + (E_t + GE_t)_{ij}$$

Onde  $Y_{ij}$  é o valor fenotípico do caractere no i-ésimo genótipo no j-ésimo tempo;  $\mu$  média geral;  $G_i$  efeito genotípico da característica do i-ésimo genótipo;  $(E_p + GE_p)_i$  efeito permanente do meio sobre o caractere no i-ésimo genótipo;  $(E_t + GE_t)_{ij}$  efeito temporário, ou localizado, do j-ésimo ambiente sobre o i-ésimo genótipo. O modelo estatístico pode ser reduzido, considerando o fenótipo de um genótipo é o resultado de um efeito permanente  $p$  e um temporário  $\epsilon$ .

$$p_i = (G + E_p + GE_p)_i$$

$$\epsilon_{ij} = (E_t + GE_t)_{ij}$$

Reduzindo o modelo dessa forma:

$$Y_{ij} = \mu + p_i + \epsilon_{ij}$$

De posse do modelo, pode-se conceituar a repetibilidade ( $\rho$ ) pela equação:

$$(\rho) = \frac{\text{Cov}(Y_{ij}, Y_{ij'})}{\sqrt{V(Y_{ij})V(Y_{ij'})}} = \frac{\sigma_p^2}{\sigma_y^2}$$

Sendo assim, a repetibilidade expressa a proporção da variância fenotípica total, a qual é atribuída pelas variações proporcionadas pelo genótipo e pelo efeito do ambiente comum (Falconer & Mackay, 1966). Por serem obtidas medidas repetidas do caráter, a variância fenotípica da população pode ser dividida em dois componentes: o componente genético, que é responsável pela variação entre os

genótipos ( $\sigma_g^2$ ), e o componente ambiental, que é atribuído às variações ambientais ( $\sigma_p^2$ ) comuns a todos os genótipos (Falconer & Mackay, 1966).:

$$\sigma_Y^2 = \sigma_p^2 + \sigma_\epsilon^2$$

$$\sigma_p^2 = \sigma_g^2 + \sigma_{ep/g}^2$$

$$\sigma_\epsilon^2 = \sigma_{et/g}^2$$

A variância dentro demonstra as variações entre desempenhos sucessivos do mesmo indivíduo, devido às diferenças temporárias de ambiente (repetibilidade no tempo) ou por diferenças localizadas (repetibilidade no espaço). Essa variação reflete a influência do ambiente que pode afetar de forma transitória o desempenho do indivíduo em diferentes avaliações. Por outro lado, a variância entre indivíduos mede as diferenças permanentes entre eles, onde o efeito genotípico é confundido com o ambiental. Essa variação indica a variabilidade genética existente na população e representa as diferenças estáveis entre os indivíduos que persistem ao longo das avaliações. Para tanto a repetibilidade é dada por:

$$(p) = \frac{\sigma_g^2 + \sigma_{ep/g}^2}{\sigma_Y^2} = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_y^2} + \frac{\sigma_{eg/g}^2}{\sigma_y^2} = h^2 + \frac{\sigma_{eg/g}^2}{\sigma_y^2}$$

Conforme mencionado anteriormente, a repetibilidade representa o valor máximo que a herdabilidade no sentido amplo pode atingir. Uma das condições essenciais para o modelo de repetibilidade, de acordo com Resende (2002), é que as avaliações repetidas tenham correlação genética igual a 1. Caso contrário, as considerações anteriores não são válidas (Cruz & Regazzi, 1997). Com o coeficiente de repetibilidade, são obtidos dois parâmetros importantes para a predição do valor real dos indivíduos: o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) ou precisão experimental e o número de medições necessárias ( $n_0$ ) para se obter um determinado  $R^2$ . O coeficiente de determinação indica a proporção da variação total que pode ser explicada pelas medições repetidas, ou seja, quanto do fenótipo é determinado geneticamente e quanto é devido a fatores ambientais. Já o número de medições necessárias indica quantas repetições são necessárias para se obter uma determinada precisão experimental, ou seja, para que a estimativa do valor real do indivíduo seja confiável.

$$R^2 = \frac{np}{1 + p(n-1)} \quad n_0 = \frac{R^2(1-p)}{(1-R^2)p}$$

### **1.13. Máxima verossimilhança restrita (REML) e o melhor preditor linear não viesado (BLUP)**

O procedimento de REML - Residual or Restricted Maximum Likelihood foi proposto por Patterson & Thompson (1971), e o de BLUP - Best Linear Unbiased Prediction proposto por Henderson (1949), com o intuito de serem utilizados em avaliações genéticas de bovinos. Só anos mais tarde, esses procedimentos foram utilizados pela primeira vez em bovinos (Henderson, 1973, 1975). Na prática, esses procedimentos passaram a ser utilizados a partir da década de 80, em função dos avanços computacionais que permitiram seu uso (Resende, 2002). Desde então, tem se mostrado uma ferramenta poderosa, pois permite a predição acurada e não viesada dos valores genéticos a partir de informações fenotípicas, simultaneamente estimando os componentes da variação genética e os valores genéticos individuais com maior precisão (Piepho et al., 2008).

Experimentos de campo são suscetíveis a diversas situações desfavoráveis, principalmente aqueles de longa duração, como é o caso de plantas perenes. Essas situações desfavoráveis são acentuadas quando o melhorista possui delineamento de plantas individuais, o que geralmente acarreta perda de plantas ou, em situações extremas, a perda de um bloco inteiro. Isso resulta em quantidades inferiores ao necessário, variando o número de repetições dentro de um experimento (Resende, 2004). Isso implica diretamente na geração de dados desbalanceados e, consequentemente, na imprecisão das informações geradas. Quando os dados apresentam essas características, a análise mais indicada é feita por meio de modelos lineares mistos REML/BLUP (Restricted Maximum Likelihood/Best Linear Unbiased Prediction), pois permite estimar, de forma aproximada, as variâncias genéticas maximizando a correlação entre valores genéticos preditos e verdadeiros (Resende, 2000; Cruz et al., 2012). Esse método foi aplicado com sucesso em muitas espécies, como em pupunheira (*Bactris gasipaes*) (Farias Neto & Resende, 2001), eucalipto (*Eucalyptus glubulus* Labill) (Resende & Thompson, 2004), milho pipoca {*Zea mays* L. subsp. *mays* [syn. *Zea mays* L. subsp. *everta* (Sturtev.) Zhuk.]} (Viana et al. 2011), cedro australiano (*Toona ciliata*) (Ferreira et al., 2012), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) (Barbosa et al., 2012), café (*Coffea arábica*) (Pereira et al., 2013), pinhão-

manso (*Jatropha curcas* L.) (Spinelli et al., 2015), dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.) (Corrêa et al., 2015), e em *Paspalum notatum* Flügge (Lopes et al., 2018).

Outro ponto importante é em relação às pressuposições básicas da análise de variância (ANOVA), que devem ser atendidas, como: os erros devem seguir uma distribuição normal, os erros devem ser independentes, os erros devem apresentar variância constante (homogeneidade de variâncias) e, por fim, o modelo deve ser aditivo. Na grande maioria dos experimentos, os dados obtidos não atendem essas pressuposições supracitadas (Resende, 2007a). Essas pressuposições são uma limitação para a utilização da ANOVA, e o método REML (Residual or Restricted Maximum Likelihood), por permitir a flexibilização dessas pressuposições, permite a análise quando elas não são atendidas.

Os efeitos do modelo na análise de variância (ANOVA) são testados por meio do teste F, enquanto nos modelos mistos os testes de significância são feitos por meio da razão de verossimilhança (Likelihood Ratio Test - LRT) (Resende, 2007a; Sturion & Resende, 2010). Assim como na ANOVA, o teste LRT produz uma tabela denominada análise de deviance (ANADEV), que é uma estatística derivada da razão entre as verossimilhanças do modelo completo (modelo saturado) em relação ao modelo sem o efeito que se deseja testar (modelo reduzido). A análise de deviance equivale a uma constante menos duas vezes o máximo da função de verossimilhança (Nelder & Wedderburn, 1972). Nessa análise, são expressos valores que representam a qualidade do ajuste entre os dados observados e os gerados pelo modelo. No LRT, as significâncias dos efeitos são testadas por meio do qui-quadrado, associado a 0,5 ou 1 grau de liberdade (Resende, 2007b).

No melhoramento de plantas perenes, como é o caso das espécies analisadas nesta tese, o procedimento ótimo de estimação/predição é o REML/BLUP. Resende (2007) lista uma série de motivos pelos quais não se deve utilizar o método de análise de variância (quadrados mínimos) no melhoramento de espécies perenes:

- i. Presença simultânea de efeitos fixos e aleatórios no mesmo modelo;
- ii. Desbalanceamento provocado pela morte de plantas;
- iii. Possibilidade de se obter estimativas negativas de variâncias;
- iv. Medições repetidas em um mesmo indivíduo durante vários anos ou épocas. Isso faz com que as medições sejam correlacionadas ao longo do tempo, o que fere a independência e homogeneidade dos erros, pressuposições básicas para efetuar a ANOVA.

Uma consideração importante a ser feita é em relação à obtenção dos dados experimentais. Quando esses dados são obtidos de forma balanceada, ou seja, sem perda de repetições/blocos e/ou plantas, a estimativa de componentes de variância pela análise de variância (quadrados mínimos) é equivalente à estimativa realizada pelo REML (Resende et al., 1996). Já a predição de valores genéticos pelo método do índice multi-efeitos (Resende & Higa, 1994) equivale-se ao BLUP individual, conforme descrito por Resende & Fernandes (1999).

#### **1.14. Componentes de variância e predição de parâmetros genéticos**

Dentro do programa de melhoramento genético, a aplicação de ferramentas para análise de variância e a possibilidade de estimativa de parâmetros genéticos relacionados a caracteres quantitativos são de grande importância para o conhecimento e a identificação gênica dos caracteres quantitativos, principalmente para a definição de estratégias de seleção e identificação de genótipos superiores, seja no desenvolvimento de linhagens, híbridos ou clones (Gaya et al., 2006; Cruz et al., 2012; Bernardo, 2020). Parâmetros genéticos como o coeficiente de variação genética, herdabilidade e correlação genética entre caracteres permitem inferir sobre a variabilidade genética, o grau de transmissão do componente genético na expressão dos caracteres, a associação entre caracteres, além de estimar a possibilidade de ganho direto e indireto com a seleção (Rocha et al., 2003).

Essas estimativas permitem identificar o modo de ação dos genes que participam no controle dos caracteres quantitativos, auxiliando principalmente na escolha do método de melhoramento e na manutenção da base genética adequada nas populações (Comstock e Robinson, 1948; Cockerham, 1956; Moreto et al., 2006; Câmara et al., 2007; Ajmal et al., 2009), bem como no modo de condução de populações segregantes, além da utilização como preditor do sucesso em futuros ciclos de seleção (Ramalho et al., 1993). A efetividade da seleção para um caráter depende da importância relativa dos fatores genéticos e não genéticos na expressão das diferenças fenotípicas (Fehr, 1987; Ramalho et al., 1993). Sendo assim, os parâmetros genéticos possibilitam a condução de maneira mais eficaz do programa de melhoramento genético (Cruz et al., 2012).

O conhecimento dos parâmetros genéticos possibilita conhecer a natureza do caráter e ter noção do quanto de trabalho será demandado para melhorá-lo. Caracteres quantitativos e suas questões genéticas são baseados em estimativas de médias e variâncias, e seu parcelamento em componentes atribuídos a diferentes causas (Falconer, 1996). A primeira partição da variância genética foi realizada em 1918, segundo Fisher (1984). E, com base nesse parâmetro, é possível determinar os fatores genéticos importantes para a população estudada. Essa variância é dividida em três componentes, de acordo com Fisher (1918): i) variância genética aditiva, atribuída aos efeitos médios dos genes; ii) variância devida aos desvios da dominância, atribuída às interações entre alelos de um mesmo loco; e, por fim, iii) variância epistática, oriunda das interações entre alelos de locos diferentes, permitindo estimar os fatores preponderantes na expressão do caráter de interesse (Reis et al., 2002). Os componentes da variância são definidos como as variâncias associadas aos efeitos aleatórios (Bardin, 1993). Estimativas das variâncias genéticas são realizadas por meio da análise de variância, obtida a partir de um conjunto de dados previamente obtidos por meio de um delineamento experimental adequado (Cruz et al., 2012). Para tanto, os quadrados médios dessa análise são desdobrados na forma de equações em seus componentes de variância (Vencovsky & Barriga, 1992). A determinação por meio dos componentes da variância tem a vantagem de evitar que os efeitos genéticos se anulem, como pode ocorrer com médias, possibilitando a obtenção de estimativas precisas dos parâmetros genéticos (Cruz et al., 2012). Com base nos componentes de variância, é possível inferir sobre o quanto da variabilidade é devido aos efeitos genéticos e/ou ambientais (Allard, 1971; Ramalho et al., 2021).

Em relação aos parâmetros genéticos, pode-se considerar que os coeficientes de variação são importantes ferramentas para predizer a variabilidade dentro da população. Para tanto, o coeficiente de variação genética ( $CV_g$ ) expressa a magnitude de variação genética em relação à média do caráter, sendo estimado em porcentagem da média geral para a quantidade de variação genética existente em uma população para o caráter estudado (Resende, 2002). Já o coeficiente de variação relativo ( $CV_r$ ) é obtido pela relação entre os coeficientes de variação genética ( $CV_g$ ) e experimental ( $CV_e$ ), portanto, não é influenciado pela média do caráter. Quando essa relação é igual ou maior que um, a condição é altamente favorável em termos de seleção (Vencovsky, 1987).

A herdabilidade é considerada o parâmetro genético de maior importância, pois estima a confiabilidade do valor fenotípico como indicador do verdadeiro valor genotípico (Falconer, 1996). Segundo esse autor, a herdabilidade é a porção da variância fenotípica equivalente à origem genética, relacionando fenótipo e genótipo. Existem três princípios para a definição da herdabilidade de acordo com Jacquard (1983): i) medida de semelhança entre progenitor e progênie; ii) porção genética no sentido amplo; e iii) porção genética no sentido restrito. Esse autor ressalta que a herdabilidade não caracteriza o caráter em si, mas sim a estrutura da população estudada.

A herdabilidade é dividida em dois tipos. O primeiro no sentido amplo ( $H^2$ ), que é determinada pela razão entre a variância genética total ( $\sigma_g^2$ ) e a variância fenotípica ( $\sigma_f^2$ ) do caráter. Portanto  $H^2 = \frac{(\sigma_g^2)}{(\sigma_f^2)}$  (Fehr, 1987; Falconer, 1996). Esse tipo de herdabilidade é especialmente importante em espécies de propagação vegetativa, onde toda a variância genética é utilizável entre as gerações clonais de seleção (Azevedo et al., 2015; Tai & Young, 1984).

Já a herdabilidade no sentido restrito ( $h^2$ ) é determinada pela razão entre a variância genética aditiva ( $\sigma_a^2$ ) e a variância fenotípica ( $\sigma_f^2$ ) de um caráter. Assim,  $h^2 = \frac{(\sigma_a^2)}{(\sigma_f^2)}$  (Falconer, 1996). Esse tipo de herdabilidade é mais indicado, pois reflete a proporção da variação total expressa que será herdada (Vencovsky, 1987), além de ter importância no melhoramento de plantas autógamas (Baldissera et al., 2014).

A magnitude do coeficiente de herdabilidade pode variar de zero a um. Para sua interpretação, considera-se que valores próximos ou iguais a um indicam que o fenótipo é inteiramente determinado pelo genótipo, sem influência do ambiente (Carvalho et al., 2001). Nessas situações, o caráter não apresenta dificuldades para ganhos de seleção (Fehr, 1987). Por outro lado, quando o coeficiente de herdabilidade se aproxima de zero, a variabilidade é de origem não genética, não havendo correlação entre o valor fenotípico e genotípico (Allard, 1961), o que dificulta o processo de melhoramento para o caráter em questão (Fehr, 1987).

A magnitude da herdabilidade pode ser classificada conforme Akinwale et al., (2011), em que magnitudes maiores que 70% são classificadas como altas, entre 31 e 70% moderadas e abaixo de 30% como baixas. Ou, mais recentemente, de acordo

com Resende (2015), que classifica as magnitudes em três classes, sendo elas, baixa, moderada e alta para valores  $h^2 < 0.15$ ,  $0.15 < h^2 < 0.50$  e  $h^2 > 0.50$ , respectivamente.

Em relação à qualidade experimental, tradicionalmente é recomendado o uso do coeficiente de variação experimental ( $CV_e$ ), conforme Pimentel-Gomes (1987), que é amplamente utilizado em diversas pesquisas. Resende & Duarte (2007) argumentam que esse parâmetro deve ser mantido para cada espécie e caráter avaliados. No entanto, o  $CV_e$  apresenta uma perspectiva puramente estatística, dependendo apenas da variação residual em relação à média do experimento (Resende & Duarte, 2007).

Outro parâmetro relacionado à qualidade experimental é o índice de variação proposto por Pimentel-Gomes (1991), chamado de coeficiente de precisão experimental ( $CP_e$ ) por Storck et al. (2000). O  $CP_e$  é considerado mais adequado que o  $CV_e$ , pois leva em conta não apenas a variação residual, mas também o número de repetições utilizadas no experimento (Resende & Duarte, 2007).

Além disso, a acurácia seletiva ( $\hat{r}_{gg}$ ), é outro parâmetro importante a ser considerado. Esse parâmetro não depende apenas da magnitude da variação ambiental (residual) e do número de repetições, mas também da proporção entre as variações de natureza genética e residual (Resende & Duarte, 2007). Em termos genéticos, a acurácia seletiva refere-se à eficácia da inferência dos valores genotípicos (Borges et al., 2009). Portanto, a acurácia seletiva é uma medida adicional ao  $CV_e$ , justificando seu uso. Dessa forma, além do  $CV_e$ , é recomendado considerar o  $CP_e$  e a acurácia seletiva como parâmetros importantes para avaliar a qualidade experimental e a confiabilidade das inferências genéticas em um estudo.

Poucos trabalhos sobre os componentes de variâncias e parâmetros genéticos estão disponíveis em espécies do gênero *Paspalum*, em especial ao *P. lepton*, porém informações mais amplas são relatadas com frequência nas mais variadas espécies. Dado o exposto, torna-se imprescindível estudos em torno do controle genético e herança do caráter através de estimativas de parâmetros genéticos e componentes da variância (Abreu et al., 2016; Moraes Junior et al., 2017).

## 1.15. HIPÓTESES E OBJETIVOS

### Hipóteses

A utilização de técnicas biométricas com base em dados fenotípicos permitirá identificar genótipos superiores e caracteres de importância no processo de seleção de híbridos de *P. notatum* e ecótipos de *P. lepton* no programa de melhoramento da UFRGS, resultando em ganhos genéticos significativos em relação ao rendimento de forragem, rendimento e qualidade de sementes.

A análise multivariada e a estimativa do grau de dissimilaridade genética entre os parentais selecionados serão eficazes na formação de uma população base para o programa de melhoramento de *P. lepton*.

A análise de correlações genética e de trilha revelará que o rendimento de sementes está associado a múltiplos caracteres fenotípicos em ecótipos e híbridos de *P. lepton*, indicando a importância de considerar essas associações na seleção genética.

### Objetivo

O objetivo desse estudo é implementar técnicas biométricas com base em dados fenotípicos, para quantificar a variabilidade genética, aumentar ganhos genéticos e auxiliar na seleção de genótipos superiores, em relação ao rendimento de forragem, rendimento e qualidade de sementes no programa de melhoramento de *Paspalum* conduzido na UFRGS.

## 2. CAPÍTULO II<sup>1</sup>

### **Genetic Parameters, Prediction of Gains and Intraspecific Hybrid Selection of *Paspalum notatum* Flügge for Forage Using REML/BLUP**

Diógenes Cecchin Silveira <sup>1,\*</sup>, Juliana Medianeira Machado <sup>2</sup>, Eder Alexandre Minski da Motta <sup>1</sup>, Marlon Rizzo Barbosa <sup>1</sup>, Carine Simioni <sup>1</sup>, Roberto Luis Weiler <sup>1</sup>, Annamaria Mills <sup>3</sup>, Rodrigo Sampaio <sup>1</sup>, André Pich Brunes <sup>1</sup> and Miguel Dall'Agnol <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Forage Department, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre 90040-060, Brazil; edermotta87@yahoo.com.br (E.A.M.d.M.); marlonrb\_1@hotmail.com (M.R.B.); carine.simioni@ufrgs.br (C.S.); robertoluisw@yahoo.com.br (R.L.W.); rodrigosampaio.rcs@gmail.com (R.S.); andre.brunes@gmail.com (A.P.B.)

<sup>2</sup>Center for Health and Agrarian Sciences, University of Cruz Alta, Cruz Alta 98020-290, Brazil; julianam.machado@yahoo.com.br

<sup>3</sup>Field Research Centre, Lincoln University, P.O. Box 85084, Lincoln 7647, New Zealand; anna.mills@lincoln.ac.nz

\*Correspondence: diogenessilveira@hotmail.com (D.C.S.); mdallagnol@gmail.com (M.D.); Tel.: +55-51-992542692 (D.C.S.); +55-51-998064997 (M.D.)

**Abstract:** Genetic improvement of native forage species is a sustainable alternative for maximizing livestock production. *Paspalum notatum* Flügge is the most important forage grass in the native grasslands of southern Brazil, with substantial potential available for further genetic improvement. The objective of this study was to quantify a range of genetic parameters and predict yield gains in a population of *P. notatum* intraspecific hybrids. Results indicated intraspecific hybrids of *P. notatum* had high magnitudes of heritability in the broad and average sense of genotype, plus high selective accuracy and genetic variation for all forage characteristics evaluated. This indicated REML/BLUP can contribute useful information for plant selection in future plant breeding programs. The genetic material studied showed high genetic variability for forage production. Analysis indicated hybrids 336, 332, 437, 132 and male parent '30N' should be included in new crosses to increase the dry matter production of *P. notatum*. Parents need to be selected from different groups in order to maximize genetic variability and heterosis. In addition, these parents must be included in diallel crosses. The results obtained in this study provide important information for the future breeding of improved *P. notatum* cultivars for commercialization.

**Keywords:** mixed models; multivariate analysis; parental selection; plant breeding

<sup>2</sup> Artigo submetido à revista Agronomy em Junho de 2022 e aprovado em Julho de 2022

## 2.1. Introduction

Native forage species in pastoral agriculture systems help to provide productive stability and conservation of natural resources and can reduce costs and risks associated with livestock production, culminating in increased sustainability of the system [1]. *Paspalum notatum* Flügge is the main constituent of natural pastures in South America [2] and is a native perennial grass [3]. In addition to being cultivated as fodder and cover all over the world [4,5], it has high forage yield [6,7] and is of wide economic importance [8]. Furthermore, when intercropped with legumes, the dry matter production of *P. notatum* was similar to when fertilized with 240 kg N ha<sup>-1</sup> [9].

The first studies to identify the mode of reproduction were carried out by Burton [10]. Later, Forbes and Burton [11] performed the artificial chromosomal duplication, with colchicine, of a sexual diploid ecotype. A sexual tetraploid was obtained in Argentina through chromosomal duplication directly in the culture medium in plants [12]. In Brazil, Weiler et al. [13] were successful in chromosomal duplication from sexual tetraploids. There was the possibility of carrying out crosses to create improved hybrids for commercial release. Some commercial cultivars were released previously in the southeastern United States and Argentina [4,14]. However, in Brazil the only cultivar available is 'Pensacola', which is diploid and has lower forage production compared with tetraploid ecotypes [8,9]. It is also less efficient in the use of nitrogen (N) compared with tetraploid ecotypes [10].

Beef cattle grazing systems in Brazil predominantly use forages which have apomixis as a form of reproduction [15]. Apomixis refers to a form of asexual reproduction through seeds, which produces progenies genetically identical to the mother plant [16]. Among the forages most used in agricultural production in this region, the genera *Panicum*, *Urochloa*, *Cenchrus* and *Paspalum* are biologically important [17]. *Paspalum notatum* has two cytotypes associated with different modes of reproduction [18], the diploid ( $2n = 2x = 20$ ), which is sexual and cross-pollinating [10], and the tetraploid ( $2n = 4x = 40$ ), which is apomictic for apospory [2,10,19]. In *P. notatum*, apomixis is gametophytic of the aposporic type, where embryo sacs originate from cells of the nucellus, and includes processes of apomeiosis, parthenogenesis and pseudogamy [20–24]. The most abundant cytotype is the apomictic tetraploid [2], and, consequently, in Rio Grande do Sul/Brazil, *P. notatum* ecotypes are generally tetraploid and reproduce apomictically [11]. Given the mode of reproduction, the exploitation of heterosis becomes a key element in breeding superior hybrids. Therefore, identifying progenitors with superior performance and with dominant allele frequencies for the characteristics of interest is fundamental for exploring hybrid vigor [25] because heterosis results from the accumulation of favorable dominant alleles [26].

The plant breeding process is time consuming, expensive and laborious due to the prolonged period of experimental evaluation and selection of superior genotypes before commercialization [27,28]. Therefore, the adoption of more robust and efficient statistical methodologies is essential to guide the process of genetic gain, especially in perennial species [29]. Furthermore, in plant breeding, estimates of genetic parameters that produce reliable predictions and information on genetic values are crucial for the success of the program [30]. Restricted/residual maximum likelihood/best linear unbiased prediction (REML/BLUP) is considered the standard evaluation method for perennial species. This method offers precision and the possibility to model both fixed and random effects [25,31–33], which is more informative than analysis of variance [34]. The variance components of genetic parameters are estimated via REML and genotypic values are predicted via BLUP [31]. Effectively, the BLUP presents a favorable characteristic for the shrinkage of the estimators towards the mean and reduces its variance and increases its predictive precision [35]. The REML/BLUP procedure has been widely used in annual allogamy breeding crops such as *Zea mays* (L.) [36, 37, 38] and autogamy such as *Glycine max* (L.) [39,40]. The procedure has also been applied to selection for perennial crops e.g., *Prunus persica* (L.) [41], but the approach is less common. Recently, the BLUP procedure was used to determine the specific combining ability of *Urochloa decumbens* [42]. In *P. notatum*, some genetic parameters for forage characteristics have previously been estimated via REML/BLUP [25].

In this study the objective was to estimate a group of genetic parameters and predict yield gains for a population of *P. notatum* intraspecific hybrids. In addition, two clustering methods were used in order to verify the variability within the tested population.

## 2.2. Material and methods

The study was carried out in the municipality of Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil (lat. 30°29'26" S, long. 51°06'42" W, alt. 62 m a.s.l.). The climate is classified as Cfa under the Köppen classification [43] and the soil is a Dystrophic Red Argisols (Ultisols) (USDA Soil taxonomy) [44]. Soil samples (0–0.2 m) were collected and tested prior to sowing the experiment. Results showed the following chemical characteristics: clay = 15%; pH (H<sub>2</sub>O) = 5.4; SMP index = 6.3; P (mg dm<sup>-3</sup>) = 15.6; K (mg dm<sup>-3</sup>) = 151.4; M.O. = 2.7%. The protocol for base and cover fertilization for perennial grasses followed the recommendation of the CQFS [45]. Urea (46% N) was applied at a rate equivalent to 160 kg N ha<sup>-1</sup> [45].

A randomized complete block design with four replicates was established at the UFRGS (Federal University of Rio Grande do Sul) Experiment Station. A total of 84 genotypes of *P. notatum* were evaluated. Clones were transplanted into the field with an on-the-square spacing of 1.0 m within and between rows. All genotypes tested were transplanted simultaneously. Three genotypes, 'C44X' [12], 'Q4188' and 'Q4205' [46], were tetraploid sexual genotypes sourced from the Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE-UNNE), Corrientes, Argentina. Seven tetraploid apomitic genotypes ('30N', '36N', '48N', '70N', '83N', '95N' and 'V4') were sourced from collections originally made in South America by the United States Department of Agriculture (USDA). The ploidy level of male parents was determined according to Fachineto et al. [47] and the reproduction mode according to Machado et al. [48]. The determination of the ploidy level was performed from the gametic chromosome number, using pollen mother cells analyzed in young inflorescences collected.

In addition, 74 intraspecific hybrids were evaluated (Table 1). These were a result of crosses between female sexual plants (from IBONE-UNNE) and apomitic male genotypes (from the USDA germplasm bank).

Tabela 1. Identification of male (♂ 4n) and female (♀ 4n) parents used to develop intraspecific hybrids of *Paspalum notatum*.

| ♂ (4n) | Origin               | ♀ (4n) * | Hybrids   |
|--------|----------------------|----------|---|
| 30N    | Santa Fé—Argentina   | Q4188    | 121; 221; 321; 421; 521; 621; 721; 821; 921; 1021; 1121 |
| 36N    | Santa Fé—Argentina   | C44X     | 112; 212; 312; 412; 512; 612; 712; 812; 912             |
|        |                      | Q4205    | 132; 232; 332; 432; 532; 632; 732                       |
| 83N    | Corrientes—Argentina | C44X     | 115; 215; 315; 415; 515; 615                            |
|        |                      | Q4188    | 125; 225; 325; 425; 525; 625; 725; 825; 925             |
| 95N    | Corrientes—Argentina | C44X     | 116; 216; 316; 416                                      |

|    |                           |       |   |
|----|---------------------------|-------|---|
|    |                           | Q4205 | 136; 236; 336; 436; 536; 636; 736; 836; 936; 1036; 1136; 1636 |
|    |                           | Q4188 | 126; 226; 326; 426; 526; 626; 726; 826; 926; 1026; 1126       |
| V4 | Barra do Quaraí/RS—Brazil | Q4205 | 137; 237; 337; 437; 537                                       |

\* All female parents originated from IBONE-UNNE, Corrientes, Argentina.

Hybrids were created according the methodology described by Burton [10] and later adapted by Weiler et al. [49]. The genotypes from USDA used in these crosses were selected in a previous evaluation for forage production [47]. In the mother plants, before the anthesis, rooted culms bearing inflorescences were collected and placed in a jar with water. These culms were placed in an artificial fog chamber with a high level of air humidity to avoid the anthers from dehiscence. In the morning of the next day, the flowers were emasculated, using sharp pointed tweezers to remove the anthers. Non-flowering spikelets were eliminated from the inflorescence. Fresh pollen from the apomictic parent was collected in paper envelopes and later dusted on emasculated inflorescences of the sexual plants. After pollination, the inflorescences were bagged and labeled. Seeds were collected at least 21 days after pollination. The progeny from each cross was referred as a family, and a number was given to identify each hybrid (Figure 1).



Figure 1. Phases of intraspecific crossing in *Paspalum notatum*. (a) Male parent and pollen collected; (b) female inflorescence pollinated after emasculation.

Seeds from the parents and the F1 generation were incubated on Germest paper lined petri dishes, for germination under controlled temperature and day length in a germination chamber: 8 h of

light at 30 °C and 16 h of darkness at 20 °C. Afterwards, the seedlings were kept in honeycomb trays until they had five fully expanded leaves. Seedlings with four tillers were then selected and transplanted into pots filled with substrate Carolina Soil™, a commercial substrate, composed of peat, vermiculite, organic residue and limestone. The evaluations were carried out in two growing seasons: (15 March and 26 April 2013) and (12 November 2013; 17 December 2013; 9 January 2014; 2 February 2014). The plants were cut to a 5 cm residual height when they reached an average height of 20 cm to quantify dry matter yield. Samples were sorted into morphological components (leaf blades, stem and inflorescences) then dried in an oven at 60 °C, until constant weight.

Plant height (PH, cm), tiller population density (TPD, tillers plant<sup>-1</sup>), accumulated total dry mass (ATDM, kg DM plant<sup>-1</sup>), accumulated leaf dry mass (ALDM, kg DM plant<sup>-1</sup>), accumulated stem dry mass (ASDM, kg DM plant<sup>-1</sup>) and accumulated inflorescence dry mass (AIDM, kg DM plant<sup>-1</sup>) were measured. Non-destructive observations were taken prior to cutting at each date. PH was measured from the soil surface to the average bend of the leaves and then the total number of tillers on each plant were counted to determine TPD. The ATDM, ALDM, ASDM and AIDM yields are the total accumulated DM of each component summed across the entire evaluation period. The leaf:stem ratio (LSR) was calculated from ALDM and ASDM.

Estimates of variance components and genetic parameters were obtained using SELEGEND-REML/BLUP software [30] following the REML/BLUP procedure. The genetic statistical model used considered a randomized block design in one location and one year, according to the model below:

$$\mathbf{y} = \mathbf{Xr} + \mathbf{Zg} + \mathbf{e} \quad (1)$$

where  $\mathbf{y}$  is the data vector,  $\mathbf{r}$  is the vector of replicate effects (assumed to be fixed),  $\mathbf{g}$  is the vector of genotypic effects (assumed to be random),  $\mathbf{e}$  is the error vector (random) and  $\mathbf{X}$  and  $\mathbf{Z}$  are the incidence matrices.

The mixed model equations for the prediction of  $\mathbf{r}$  and  $\mathbf{g}$  are equivalent to:

$$\begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{X} & \mathbf{X}'\mathbf{Z} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{X} & \mathbf{Z}'\mathbf{Z} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mathbf{r} \\ \mathbf{g} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{y} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{y} \end{bmatrix} \quad (2)$$

The significance of random effects was obtained through deviance analysis (ANADEV) by the restricted maximum likelihood method, via LRT (likelihood-ratio test). Deviances were obtained following the method of Resende [50], using the model with and without the respective effects, subtracting the deviance obtained in the complete model from the model without the effect and compared with the chi-square ( $\chi^2$ ) value with a degree of freedom. The block factor, considered fixed effect, was tested by Snedecor's F test. The genetic parameters via REML for phenotypic ( $\sigma_p^2$ ), genotypic ( $\sigma_g^2$ ) and environmental ( $\sigma_e^2$ ) variance by the EM (expectation-maximization) algorithm are specified by the formulas:

$$\sigma_e^2[y'y - g'X'y - g'Z'y] / [N - r(x)] \quad (3)$$

$$\sigma_g^2[g'g + \sigma_e^2 \operatorname{tr} C^{22}] / N_g \quad (4)$$

$$\sigma_p^2 = \sigma_g^2 + \sigma_e^2 \quad (5)$$

where the number of random elements (genotypes) is  $N_g$ , the sum of the elements of the diagonal matrix (matrix operator) is  $\operatorname{tr}$ , the total number of data is  $N$ , the number of independent linear columns is  $X$  and  $C^{22}$  is determined by the formula:

$$\begin{bmatrix} C^{11} & C^{12} \\ C^{21} & C^{22} \end{bmatrix} = \frac{\mathbf{X}'\mathbf{X}}{\mathbf{Z}'\mathbf{X}} + \frac{\mathbf{X}'\mathbf{Z}(\sigma_g^2 + \sigma_e^2)}{\mathbf{A}^{-1}} \quad -1 \quad (6)$$

Heritability in the broad sense ( $h_g^2$ ) and selective accuracy ( $\hat{r}_{gg}$ ), genetic variation coefficient (CV<sub>g</sub>), residual variation coefficient (CV<sub>res</sub>) and relative variation coefficient (CV<sub>r</sub>) were estimated as follows:

$$h_g^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \sigma_e^2} \quad (7)$$

$$\hat{r}_{gg} = (h_g^2)^{1/2} \quad (8)$$

$$CV_g(\%) = \frac{100\sqrt{\sigma_g^2}}{\bar{m}} \quad (9)$$

$$CV_{res}(\%) = \frac{100\sqrt{\sigma_e^2}}{\bar{m}} \quad (10)$$

$$CV_r(\%) = \frac{CV_g}{CV_{res}} \quad (11)$$

Genetic divergence among the hybrids was evaluated by Tocher's clustering method and Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages (UPGMA), by the matrix of genetic distances of Mahalanobis [50]. The predicted values were obtained from the variance and covariance matrix of these genetic values as follows:  $D_{ii'}^2 = \delta' G \delta$ , where  $D_{ii'}^2$  is the Mahalanobis distance between genotypes i and i'; G is the matrix of genotypic variance and covariance;  $\delta$  [ $d_1, d_2, \dots, d_j$ ], being  $d_j = Y_{ij} - Y_{\bar{i}}$ ; and  $Y_{\bar{i}}$  where mean of the i-th genotype in relation to the j-th variable.

All analyses were performed using the SELEGEN-REML/BLUP genetic-statistical computational application [30] and GENES [51] to obtain multivariate analyzes.

### 2.3. Results

In all characteristics studied, the LRT for genotypic effects was significant ( $p < 0.01$ ) (Table 2). The highest estimates of genetic ( $\hat{\sigma}_g^2$ ) and phenotypic ( $\hat{\sigma}_p^2$ ) variance were for ALDM and TPD. The results indicated there was potential for selection gains within the studied germplasm. For all characteristics there was high genetic variability ( $CV_g$ ), which ranged from a minimum of 27.8 (PH) to a maximum of 78.7 (ASDM). Additionally, high heritability values ( $h_g^2$ ) were identified within the population studied. High values of these genetic parameters led to high average heritability of genotypes ( $h_{mc}^2$ ) and high selective accuracy ( $\hat{r}_{gg}$ ) with all values close to 1.0. This indicated strong genetic control in the studied characteristics in addition to the potential for selection among intraspecific hybrids. The relative variation coefficient ( $CV_r$ ) of all characteristics studied exceeded 1.0. This was a particularly important result because heritability can vary under different environmental conditions, between years and across evaluated characteristics. Therefore, this parameter is of great importance to assist in decision making within the breeding program.

Tabela 2. Verisimilitude values (LRT) of deviance analysis (ANADEV) and estimates of genetic parameters (individual REML) for characteristics quantified for intraspecific hybrids of *P. notatum* Flügge.

| Parameters             | ATDM<br>(kg DM Plant <sup>-1</sup> ) | ALDM<br>(kg DM Plant <sup>-1</sup> ) | ASDM<br>(kg DM Plant <sup>-1</sup> ) | AIDM<br>(kg DM Plant <sup>-1</sup> ) | LSR       | PH<br>(cm) | TPD<br>(Tillers Plant <sup>-1</sup> ) |
|------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-----------|------------|---------------------------------------|
| DEV genotype           | 3518.7                               | 3176.5                               | 2786.2                               | 2306.4                               | 604.31    | 1418       | 2960.1                                |
| DEV complete model     | 2275.1                               | 1803.9                               | 1352.7                               | 1042.5                               | 199.27    | 351.43     | 1176.9                                |
| LRT ( $\chi^2$ )       | 1243.64 **                           | 1372.53 **                           | 1433.47 **                           | 1263.93 **                           | 405.04 ** | 1066.60 ** | 1783.22 **                            |
| LI h <sup>2</sup> (%)  | 0.6939                               | 0.6954                               | 0.696                                | 0.6942                               | 0.5895    | 0.6902     | 0.6971                                |
| LS h <sup>2</sup> (%)  | 1.2976                               | 1.2995                               | 1.3                                  | 1.2979                               | 1.1544    | 1.2923     | 1.3019                                |
| $\hat{\sigma}_g^2$     | 13,917.2                             | 4972.7                               | 1535.6                               | 361.29                               | 1.8772    | 24.755     | 2596.6                                |
| $\hat{\sigma}_{res}^2$ | 59.716                               | 12.688                               | 3.0655                               | 1.4284                               | 0.2758    | 0.2175     | 1.27                                  |
| $\hat{\sigma}_p^2$     | 13.977                               | 4985.4                               | 1538.7                               | 362.72                               | 2.1529    | 24.972     | 2597.9                                |
| $h_g^2$                | 0.9957                               | 0.9975                               | 0.998                                | 0.9961                               | 0.8719    | 0.9913     | 0.9995                                |
| $h_{mc}^2$             | 0.9989                               | 0.9994                               | 0.9995                               | 0.999                                | 0.9646    | 0.9978     | 0.9999                                |
| $\hat{r}_{gg}$         | 0.9995                               | 0.9997                               | 0.9998                               | 0.9995                               | 0.9821    | 0.9989     | 0.9999                                |
| $CV_g$ (%)             | 64.656                               | 65.597                               | 78.706                               | 73.344                               | 51.781    | 27.866     | 49.857                                |

|                       |        |         |        |        |        |        |        |
|-----------------------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|
| CV <sub>res</sub> (%) | 4.2352 | 3.3134  | 3.5165 | 4.6117 | 19.846 | 2.6118 | 1.1026 |
| CV <sub>r</sub>       | 15.266 | 19.797  | 22.382 | 15.904 | 2.6091 | 10.669 | 45.217 |
| Grand mean            | 182.46 | 107.501 | 49.789 | 25.916 | 2.646  | 17.855 | 102.21 |

Accumulated total dry mass (ATDM), accumulated leaf dry mass (ALDM), accumulated stem dry mass (ASDM), accumulated inflorescence dry mass (AIDM), leaf:stem ratio (LSR), plant height (PH), tiller population density (TPD). Confidence interval at 5% probability with inferior (LI) and superior (LS) limits, genotypic variance ( $\widehat{\sigma}_g^2$ ), residual variance ( $\widehat{\sigma}_{res}^2$ ), phenotypic variance ( $\widehat{\sigma}_p^2$ ), individual heritability in the broad sense ( $h_g^2$ ), average heritability of genotype (range) ( $h_{mc}^2$ ), selective accuracy ( $\widehat{\Gamma}_{gg}$ ), genetic variation coefficient (CV<sub>g</sub>), residual variation coefficient (CV<sub>res</sub>) and relative variation coefficient (CV<sub>r</sub>). \*\* significant at  $p < 0.01$ , by the chi-square test ( $\chi^2$ ) with 1 degree freedom.

Based on the BLUP methodology 15 superior intraspecific hybrids were then selected to quantify forage characteristics. These hybrids represented 17.8% of the total germplasm evaluated (Table 3) and were chosen because their predicted breeding values were higher than the grand mean for all parameters evaluated. For ATDM, ALDM, ASDM, AIDM, LSR, PH, TPD and LS, new averages ( $\bar{X}_{new}$ ) were 458.70 kg DM plant<sup>-1</sup>, 270.87 kg DM plant<sup>-1</sup>, 144.7855 kg DM plant<sup>-1</sup>, 67.6287 kg DM plant<sup>-1</sup>, 5.98:1, 27.37 cm and 207.72 tillers per plant<sup>-1</sup>, respectively. The genetic value for ATDM and ALDM revealed that intraspecific hybrids 336, 332, 437, 132 and male parent '30N' were superior to other genotypes and hybrids. Genetic gains ranged from 201.1 to 399.5 1 kg DM plant<sup>-1</sup> for ATDM and 223.4 to 347.1 kg DM plant<sup>-1</sup> for ALDM, which raised the population mean.

The LSR of hybrids 1026, 525, 225 and female parents 'Q4188' and 'Q4205' showed superior values within the selected population (Table 3). Genetic gains ranged from 2.33 to 4.49. For TPD, genetic gains ranged from 81.6 to 145.8 tillers plant<sup>-1</sup>. Hybrids 137, 216, 132, 332 and male parent '48N', were superior to other evaluated material. Based on the most important forage characteristics, the aforementioned intraspecific hybrids were identified as potential parents in new crosses aiming at greater genetic gain for forage production of *P. notatum*.

Tabela 3. Predicted genotypic effect (g), genotypic value (u + g), genetic gains (gain) and new average ( $\bar{X}_{new}$ ) for characteristics studied in intraspecific hybrids of *P. notatum* Flügge.

| ATDM (kg DM Plant <sup>-1</sup> ) |        |        |        |        | ALDM (kg DM Plant <sup>-1</sup> ) |        |        |        |        | ASDM (kg DM Plant <sup>-1</sup> ) |        |        |        |        |                 |
|-----------------------------------|--------|--------|--------|--------|-----------------------------------|--------|--------|--------|--------|-----------------------------------|--------|--------|--------|--------|-----------------|
| Order                             | Hybrid | g      | u + g  | Gain   | $\bar{X}_{new}$                   | Hybrid | g      | u + g  | Gain   | $\bar{X}_{new}$                   | Hybrid | g      | u + g  | Gain   | $\bar{X}_{new}$ |
| 1                                 | 336    | 399.51 | 581.97 | 399.51 | 581.97                            | 336    | 239.64 | 347.14 | 239.64 | 347.14                            | 437    | 130.86 | 180.65 | 130.86 | 180.65          |
| 2                                 | 332    | 332.58 | 515.04 | 366.05 | 548.51                            | 332    | 226.72 | 334.22 | 233.18 | 340.68                            | V4     | 117.15 | 166.94 | 124.01 | 173.79          |
| 3                                 | 437    | 319.52 | 501.98 | 350.54 | 533.00                            | 132    | 171.29 | 278.80 | 212.55 | 320.05                            | 336    | 111.68 | 161.47 | 119.90 | 169.69          |
| 4                                 | 132    | 262.96 | 445.42 | 328.64 | 511.10                            | 437    | 155.89 | 263.40 | 198.39 | 305.89                            | 221    | 96.12  | 145.90 | 113.95 | 163.74          |
| 5                                 | 30N    | 206.79 | 389.25 | 304.27 | 486.73                            | 30N    | 108.63 | 216.13 | 180.43 | 287.94                            | 332    | 79.61  | 129.40 | 107.08 | 156.87          |
| 6                                 | 221    | 200.32 | 382.79 | 286.95 | 469.41                            | 236    | 103.66 | 211.16 | 167.64 | 275.14                            | 515    | 70.68  | 120.47 | 101.02 | 150.80          |
| 7                                 | 236    | 188.31 | 370.77 | 272.86 | 455.32                            | 221    | 102.77 | 210.27 | 158.37 | 265.87                            | 236    | 66.33  | 116.12 | 96.06  | 145.85          |
| 8                                 | 137    | 168.76 | 351.22 | 259.84 | 442.31                            | 95N    | 99.84  | 207.34 | 151.05 | 258.56                            | 116    | 60.28  | 110.07 | 91.59  | 141.38          |
| 9                                 | 95N    | 168.08 | 350.54 | 249.65 | 432.11                            | 725    | 99.00  | 206.50 | 145.27 | 252.77                            | 30N    | 49.69  | 99.48  | 86.93  | 136.72          |
| 10                                | 515    | 162.79 | 345.25 | 240.96 | 423.42                            | 137    | 91.42  | 198.92 | 139.89 | 247.39                            | 137    | 48.64  | 98.43  | 83.10  | 132.89          |
| 11                                | V4     | 148.26 | 330.72 | 232.54 | 415.00                            | 926    | 82.56  | 190.06 | 134.67 | 242.18                            | 132    | 43.18  | 92.97  | 79.47  | 129.26          |
| 12                                | 48N    | 143.36 | 325.82 | 225.10 | 407.56                            | V4     | 68.46  | 175.96 | 129.16 | 236.66                            | 70N    | 42.64  | 92.43  | 76.40  | 126.19          |
| 13                                | 216    | 121.01 | 303.47 | 217.10 | 399.56                            | 636    | 67.07  | 174.57 | 124.38 | 231.88                            | 337    | 42.48  | 92.27  | 73.79  | 123.58          |
| 14                                | 926    | 98.23  | 280.69 | 208.61 | 391.07                            | 225    | 62.94  | 170.44 | 119.99 | 227.49                            | 316    | 40.70  | 90.49  | 71.43  | 121.22          |
| 15                                | 337    | 95.81  | 278.27 | 201.09 | 383.55                            | 721    | 59.34  | 166.84 | 115.95 | 223.45                            | 48N    | 40.26  | 90.05  | 69.35  | 119.14          |
| AIDM (kg DM plant <sup>-1</sup> ) |        |        |        |        | LSR                               |        |        |        |        | PH (cm)                           |        |        |        |        |                 |
| Order                             | Hybrid | g      | u + g  | Gain   | $\bar{X}_{new}$                   | Hybrid | g      | u + g  | Gain   | $\bar{X}_{new}$                   | Hybrid | g      | u + g  | Gain   | $\bar{X}_{new}$ |
| 1                                 | 132    | 47.84  | 73.76  | 47.84  | 73.76                             | Q4188  | 4.49   | 7.14   | 4.49   | 7.14                              | 437    | 13.35  | 31.20  | 13.35  | 31.20           |
| 2                                 | 30N    | 47.81  | 73.73  | 47.83  | 73.74                             | 1026   | 4.09   | 6.73   | 4.29   | 6.94                              | 525    | 11.74  | 29.60  | 12.54  | 30.40           |
| 3                                 | 336    | 47.62  | 73.53  | 47.76  | 73.67                             | 525    | 4.07   | 6.71   | 4.22   | 6.86                              | 332    | 8.93   | 26.78  | 11.34  | 29.19           |
| 4                                 | 48N    | 46.40  | 72.32  | 47.42  | 73.33                             | 225    | 3.39   | 6.03   | 4.01   | 6.65                              | 115    | 8.15   | 26.01  | 10.54  | 28.40           |
| 5                                 | 515    | 39.64  | 65.55  | 45.86  | 71.78                             | Q4205  | 3.07   | 5.72   | 3.82   | 6.47                              | 636    | 8.13   | 25.98  | 10.06  | 27.91           |
| 6                                 | 212    | 35.92  | 61.83  | 44.20  | 70.12                             | 1136   | 2.68   | 5.33   | 3.63   | 6.28                              | 621    | 7.63   | 25.48  | 9.65   | 27.51           |
| 7                                 | 316    | 32.89  | 58.81  | 42.59  | 68.50                             | 921    | 2.49   | 5.14   | 3.47   | 6.11                              | 926    | 7.50   | 25.36  | 9.35   | 27.20           |
| 8                                 | 437    | 32.17  | 58.09  | 41.29  | 67.20                             | 1636   | 2.31   | 4.96   | 3.32   | 5.97                              | 336    | 6.77   | 24.63  | 9.03   | 26.88           |
| 9                                 | 95N    | 32.10  | 58.02  | 40.27  | 66.18                             | 532    | 1.63   | 4.28   | 3.14   | 5.78                              | 1136   | 6.51   | 24.36  | 8.75   | 26.60           |

| 10                                 | 70N    | 28.97 | 54.89 | 39.14 | 65.05 | 721                    | 1.37 | 4.02 | 2.96 | 5.61 | 132  | 6.15 | 24.01 | 8.49 | 26.34 |
|------------------------------------|--------|-------|-------|-------|-------|------------------------|------|------|------|------|------|------|-------|------|-------|
| 11                                 | 137    | 28.03 | 53.94 | 38.13 | 64.04 | 725                    | 1.26 | 3.90 | 2.81 | 5.45 | 1036 | 6.13 | 23.98 | 8.27 | 26.13 |
| 12                                 | 116    | 27.51 | 53.43 | 37.24 | 63.16 | 536                    | 1.14 | 3.79 | 2.67 | 5.31 | 936  | 6.01 | 23.86 | 8.08 | 25.94 |
| 13                                 | 332    | 25.67 | 51.58 | 36.35 | 62.27 | 825                    | 1.10 | 3.74 | 2.55 | 5.19 | 836  | 5.95 | 23.80 | 7.92 | 25.77 |
| 14                                 | 415    | 24.26 | 50.17 | 35.49 | 61.40 | 912                    | 0.98 | 3.62 | 2.43 | 5.08 | 1021 | 5.88 | 23.73 | 7.77 | 25.63 |
| 15                                 | 236    | 17.66 | 43.58 | 34.30 | 60.21 | 936                    | 0.97 | 3.61 | 2.34 | 4.98 | 537  | 5.56 | 23.41 | 7.63 | 25.48 |
| TPD (tillers plant <sup>-1</sup> ) |        |       |       |       |       |                        |      |      |      |      |      |      |       |      |       |
| Order                              | Hybrid | g     | u + g | Gain  |       | $\bar{X}_{\text{new}}$ |      |      |      |      |      |      |       |      |       |
| 1                                  | 137    | 146   | 248   | 146   |       | 248                    |      |      |      |      |      |      |       |      |       |
| 2                                  | 216    | 126   | 228   | 136   |       | 238                    |      |      |      |      |      |      |       |      |       |
| 3                                  | 132    | 104   | 206   | 125   |       | 227                    |      |      |      |      |      |      |       |      |       |
| 4                                  | 332    | 102   | 204   | 119   |       | 222                    |      |      |      |      |      |      |       |      |       |
| 5                                  | 48N    | 91    | 194   | 114   |       | 216                    |      |      |      |      |      |      |       |      |       |
| 6                                  | 725    | 87    | 189   | 109   |       | 212                    |      |      |      |      |      |      |       |      |       |
| 7                                  | 726    | 85    | 188   | 106   |       | 208                    |      |      |      |      |      |      |       |      |       |
| 8                                  | 95N    | 73    | 175   | 102   |       | 204                    |      |      |      |      |      |      |       |      |       |
| 9                                  | 321    | 69    | 171   | 98    |       | 200                    |      |      |      |      |      |      |       |      |       |
| 10                                 | 336    | 66    | 168   | 95    |       | 197                    |      |      |      |      |      |      |       |      |       |
| 11                                 | 36N    | 63    | 165   | 92    |       | 194                    |      |      |      |      |      |      |       |      |       |
| 12                                 | 926    | 55    | 157   | 89    |       | 191                    |      |      |      |      |      |      |       |      |       |
| 13                                 | 436    | 53    | 156   | 86    |       | 188                    |      |      |      |      |      |      |       |      |       |
| 14                                 | V4     | 52    | 155   | 84    |       | 186                    |      |      |      |      |      |      |       |      |       |
| 15                                 | 221    | 52    | 154   | 82    |       | 184                    |      |      |      |      |      |      |       |      |       |

Accumulated total dry mass (ATDM), accumulated leaf dry mass (ALDM), accumulated stem dry mass (ASDM), accumulated inflorescence dry mass (AIDM), leaf: stem ratio (LSR), plant height (PH), tiller population density (TPD).

The Tocher optimization method identified eight distinct groups of intraspecific hybrids (Table 4). Group I contained the highest concentration of hybrids (64.3%). This demonstrated that these hybrids are more related and have less genetic variation among them. The highest average ATDM was 514.1 kg DM plant<sup>-1</sup> (Group V), 501.9 kg DM plant<sup>-1</sup> (Group VII), 327.3 kg DM plant<sup>-1</sup> (Group VI) and 305.9 kg DM plant<sup>-1</sup> (Group II). Group VI had the highest average ALDM (238.1 kg DM plant<sup>-1</sup>) and Group V had the highest average TPD (192.7 tillers plant<sup>-1</sup>). The constituent genotypes of Groups V, VI, VII and II can be included as parents in future crosses.

Table 4. Composition of groups formed by the Tocher optimization method for evaluated intraspecific hybrids of *P. notatum* Flügge, based on the average genetic Euclidean distance matrix.

| Group | Hybrids  |
|-------|--|
| I     | 232; 325; 126; 1121; 326; 526; 826; 1126; 626; 416; 426; 615; 412; 632; 925; 812; 521; 315; 625; 425; 212; 712; 112; 432; 512; 215; 226; 536; 612; 121; 125; 912; 83N; 312; 736; 825; 821; 237; 732; C44X; 421; 1036; 436; 537; 1021; 415; 136; 836; 36N; 726; 115; 936; 721; 1636 |
| II    | 636; 926; 621; 337; 321; 316; 236; 515; 70N; 116; 95N; 30N; 48N; 221; V4   |
| III   | 225; 921; Q4188; Q4205; 725  |
| IV    | 1026; 1136; 525  |
| V     | 332; 336; 132  |
| VI    | 137; 216   |
| VII   | 437  |
| VIII  | 532  |

The observed cophenetic correlation coefficient demonstrated an adequate relationship between the distance matrix and the generated dendrogram (Figure 2). The UPGMA clustering method found 10 homogeneous groups which were heterogeneous to the others identified. These results differed to those found by the Tocher method (Table 3). Both methods demonstrated the presence of high genetic variability within the intraspecific hybrids studied (Table 3; Figure 2). The first two groups contained 71% of the hybrids studied, with Group I containing 46% of all hybrids, followed by Group II (Figure 2) with a further 25%. For the ATDM characteristic, groups VI, VII and VIII had the highest

average yields of 514.1, 501.9 and 356.7 kg DM plant<sup>-1</sup>, respectively. Groups VI (320.1 kg DM plant<sup>-1</sup>), VII (263.4 kg DM plant<sup>-1</sup>) and IV (20.65 kg DM plant<sup>-1</sup>) had superior ALDM compared with the other groups identified. LSR was higher for Groups V (6.3), III (6.1) and IV (3.9).

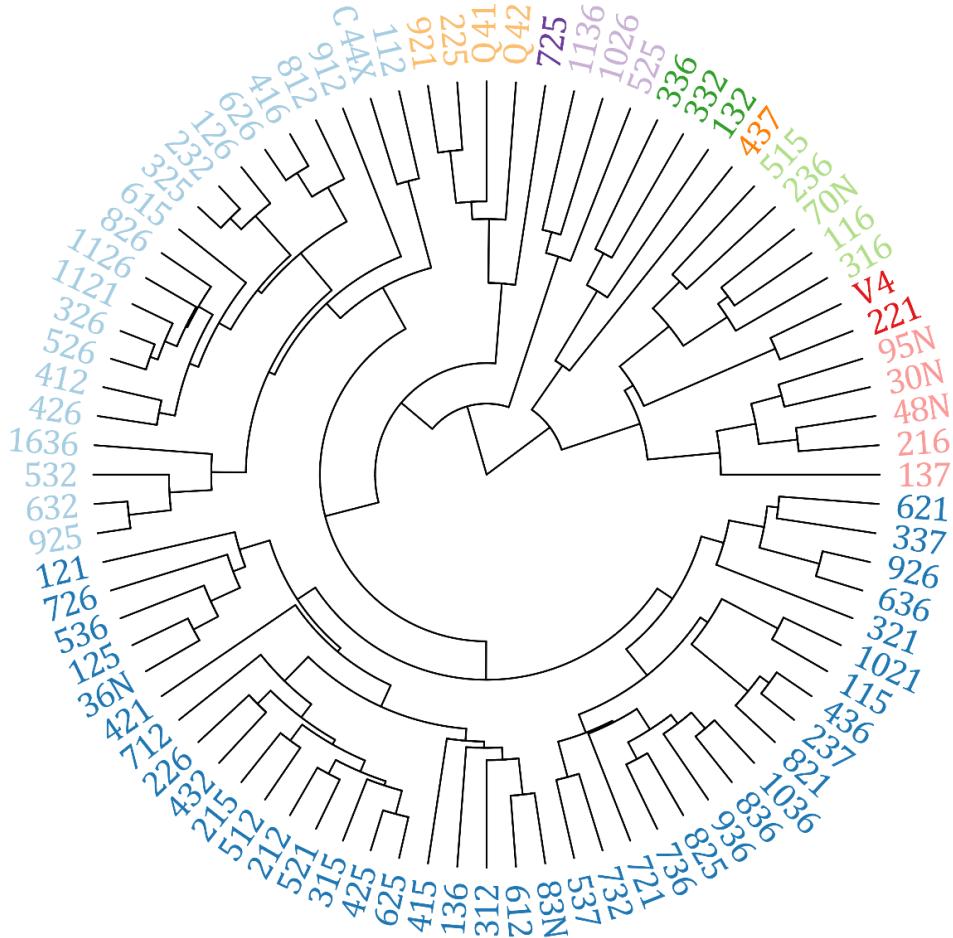


Figure 2. Dendrogram of genetic dissimilarity among 74 intraspecific hybrids and eight parents of *P. notatum* Flügge, obtained by the UPGMA method, based on the average genetic Euclidean distance matrix considering the yield and morphological characteristics evaluated. Cophenetic correlation index = 0.76. Group I (blue); Group II (light blue); Group III (orange); Group IV (purple); Group V (light purple); Group VI (green); Group VII (orange); Group VIII (light green); Group IX (red) and Group X (light red).

#### 2.4. Discussion

The significance for genetic effects (Table 2) indicated the existence of genetic variability and the possibility of yield gains through targeted selection criteria [52,53]. Genetic variance ( $\hat{\sigma}_g^2$ ) was positive and non-zero values demonstrate greater genetic variation and chances of production gains with selection [54] and relative coefficient of variation values (CV<sub>r</sub>) greater than 1.0 indicated a benefit in selection [55]. Heritability values ( $h_g^2$ ) were >0.50, which is considered high, mainly because it indicates how much of the genotypic variation is of genetic origin [31]. Therefore, it is clear that the variance is a particular case of covariance of a variable with itself. Covariance plays a fundamental role in selection as the association and similarity between parents and children is of interest to the breeder and guarantees progress in selection and can be measured by covariance. The narrow sense heritability for forage and seed yield was previously also identified as high [25]. However, in this study the correlation values were lower. These values indicated a high probability of success in the selection of hybrids with increased potential forage yields. Selective accuracy ( $\hat{r}_{gg}$ ) is the correlation between the true genotypic value of the genotypes and the estimated/predicted value [56]. High values of  $\hat{r}_{gg}$  (close

to 1) indicate the experimental design was adequate and the results obtained were reliable (Table 2). The quality of the genotypic assessment should be based on  $\hat{r}_{gg}$  because they provide more accurate inferences of the genetic value of the hybrids evaluated [53]. It is important to note that selective accuracy ( $\hat{r}_{gg}$ ) is not associated with the genetic merit of the genotypes studied [57]. The set of information generated through the estimation of genetic parameters within the population assists the breeder in selection decisions [30]. Estimating genetic parameters via REML and prediction of genotypic values via BLUP offers a more robust and efficient statistical methodology in genetic improvement [26,29,34]. Thus, the data obtained here demonstrate high potential to produce genetic gains in the forage production traits studied in future breeding selections.

Breeding programs need to prioritize crossing genotypes with high average values for desirable traits [58]. The formation of several groups (Table 4) demonstrated genetic divergence between the genotypes studied. This means there will be numerous alternatives for crosses among the groups identified [59]. These authors emphasized that the analysis of genetic divergence simplifies and facilitates the use of germplasm in future crosses. Similar to other studies of genetic divergence, the Tocher method used here also showed a trend towards the formation of a larger group and genotypes isolated in other groups [60–62]. Multivariate analyses, such as Tocher (Table 4) and UPMG (Figure 2), are powerful tools to assist in the characterization [63] and discrimination of genotypes [64,65] and should be extensively used in genetic diversity studies [66–68]. Understanding genetic diversity is one of the fundamental steps within genetic improvement programs, with the multivariate analysis approach being the most commonly used [69]. Generally, when there is a large amount of data, such as morphological, physiological, biochemical and molecular data, multivariate analyses are used with emphasis on the selection and preservation of genotypes with potential for use within the breeding program [69,70]. The use of dendograms (Figure 2) to graphically describe the clustering method requires the cophenetic correlation coefficient to exceed 0.70 [63]. Crosses between elite genotypes with complementary characteristics is desirable to obtain hybrids with enough genetic variability to outperform the parents [71]. Crosses between hybrids assigned to the same group are not interesting, mainly because of low variability and the non-exploitation of the existing potential diversity (Table 4; Figure 2). Similarly, the formation of groups with many genotypes can be a limiting factor in the choice of parents for breeding programs because of the proximity between the genotypes within the group [72]. Thus, a combination of desirable characteristics and low genetic similarity is required to increase the probability of exploitation of heterosis [8].

This study has shown intraspecific hybrids of *P. notatum* had high magnitudes of heritability in the broad and average sense of genotype, plus high selective accuracy and genetic variation for all forage characteristics evaluated. This indicated there is potential to select superior hybrids using the REML/BLUP method in future plant breeding forages programs. The genetic material studied included hybrids with high genetic variability for forage production. In the next stage of the breeding program, the selected hybrids (Table 3; Figure 2) can be included in new crosses with female parents that have high genetic value. These parents will be selected from different groups to maximize genetic variability and heterosis. In addition, these parents must be included in diallel crosses mainly, aiming to select the best parents capable of generating new productive populations, mainly aiming at the general combining ability, which refers to the ability of a parent to produce progenies with a given performance when crossed with a number of other parents, or even in relation to specific combination ability, which refers to the performance of a specific combination. This will allow the results to be confirmed by BLUP and multivariate analysis (Tocher and UPGMA) because these analyses are predictive in nature. Based on diallel crosses, parameters such as heterosis, heterobeltiosis and combining ability (general and specific) can be estimated. The advances obtained with the study of a promising species such as *P. notatum* will future favor the availability of commercial cultivars for the purpose of use in intensive livestock production systems and in the recovery of degraded areas. In addition, it will also contribute to the conservation of natural grassland areas in South America.

## 2.5. Conclusion

REML-estimated genetic parameters in combination with optimization via multivariate analysis can identify superior genetic material which allows the selection of superior *P. notatum* forage hybrids for pastoral systems.

Multivariate analyses are indispensable tools in plant breeding. They create divergent groups for a characteristic of interest, each of which contains a range of homogeneous genotypes and enables selection of the best parents from each group.

The new averages identified for characteristics of interest via BLUP indicated intraspecific hybrids 336, 332, 437, 132 and male parent '30N' can be used in new crosses to increase the dry matter production of *P. notatum*.

**Author Contributions:** Conceptualization, D.C.S., J.M.M., C.S. and M.D.; methodology, D.C.S. and J.M.M.; formal analysis, D.C.S.; investigation, J.M.M., E.A.M.d.M., M.R.B., C.S., R.L.W., R.S. and M.D.; resources, M.D.; data curation, D.C.S. and J.M.M.; writing—original draft preparation, D.C.S., R.L.W., A.M., A.P.B. and M.D.; writing—review and editing, D.C.S., R.L.W., A.M., A.P.B. and M.D.; supervision, J.M.M.; project administration, J.M.M., E.A.M.d.M., M.R.B., C.S., R.L.W. and M.D. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was funded by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

**Data Availability Statement:** Not applicable.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflicts of interest.

## 2.6. References

- Gasparetto, B.F.; Radunz, L.L.; Lopes, R.R.; Franke, L.B.; Martinelli, J.A. Fungi associated with *Paspalum guenoarum* seeds: Their impact on physiology and control. *Cienc. Rural.* **2021**, *51*, e20200497. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200497>.
- Gates, R.N.; Quarín, C.L.; Pedreira, C.G. Bahiagrass. In *Warm-Season (C4) Grasses*; American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America: Madison, WI, USA, 2004; Volume 45, pp. 651–680.
- Zilli, A.L.; Brugnoli, E.A.; Marcón, F.; Billa, M.B.; Rios, E.F.; Martínez, E.J.; Acuña, C.A. Heterosis and Expressivity of Apospory in Tetraploid Bahiagrass Hybrids. *Crop Sci.* **2015**, *55*, 1189–1201. <https://doi.org/10.2135/cropsci2014.10.0685>.
- Blount, A.R.; Acuña, C.A. Bahiagrass. In *Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement Series: Forage Crops*; Singh, R.J., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2009; Volume 5, pp. 81–101.
- Wawu, F.U.K.; Sudita, I.D.N.; Rejeki, I.G.A.D.S.; Physical quality of some types of grass on mixed planting with *Arachis pintoi* and organic fertilizing. *J. Phys. Conf. Ser.* **2021**, *1869*, 012049. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1869/1/012049>.
- Steiner, M.G.; Dall'Agnol, M.; Nabinger, C.; Scheffer-Basso, S.M.; Weiler, R.L.; Simioni, C.; Schifino-Wittmann, M.T.; Motta, É.A.M.D. Forage potential of native ecotypes of *Paspalum notatum* and *P. guenoarum*. *Acad. Bras. Ciênc.* **2017**, *89*, 1753–1760. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160662>.
- Machado, J.M.; Dall'Agnol, M.; Motta, E.A.M.; Pereira, E.A.; Barbosa, M.R.; Neme, J.C.; Krycki, K.C. Productive potential of superior genotypes of *Paspalum notatum* Flügge in response to nitrogen fertilization. *Rev. Bras. Saude. Prod. Anim.* **2019**, *20*, e03102019. <https://doi.org/10.1590/s1519-99402003102019>.
- Fachinetto, J.; Dall'Agnol, M.; Schneider-Canny, R.; Janke-Porto, A.; de Souza, M.G. Genetic Similarity among Accessions of *Paspalum notatum* Flügge (Poaceae): A Potential to Parental Selection. *Braz. Arch. Biol. Technol.* **2021**, *64*, e21190007. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2021190007>.
- Motta, E.A.M.; da Grinho, L.A.; Dall'Agnol, M.; Pötter, L.; Nabinger, C.; Souza, C.H.L.; de Krycki, K.C.; dos Santos, T.N.; Weiler, R.L.; de Ávila, M.R. Response of Bahiagrass hybrids to nitrogen fertilization or mixture with legumes. *Rev. Bras. De Zootec.* **2021**, *50*, e20210015. <https://doi.org/10.37496/rbz5020210015>.
- Burton, G.W. Breeding Pensacola bahiagrass, *Paspalum notatum*: Method of reproduction. *Agron. J.* **1955**, *47*, 311–314. <https://doi.org/10.2134/agronj1955.00021962004700070008x>.
- Forbes, I.; Burton, G.W. Induction of Tetraploidy and a Rapid Field Method of Detecting Induced Tetraploidy in Pensacola Bahiagrass 1. *Crop Sci.* **1961**, *1*, 383–384. <https://doi.org/10.2135/cropsci1961.0011183X000100050032x>.
- Quarín, C.L.; Espinoza, F.; Martinez, E.J.; Pessino, S.C.; Bovo, O.A. A rise of ploidy level induces the expression of apomixis in *Paspalum notatum*. *Sex. Plant Reprod.* **2001**, *13*, 243–249. <https://doi.org/10.1007/s004970100070>.

13. Weiler, R.L.; Krycki, K.C.; Guerra, D.; Simioni, C.; Dall'Agnol, M. Chromosome Doubling in *Paspalum Notatum* Var. Saure (Cultivar Pensacola). *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* **2015**, *15*, 106–111. <https://doi.org/10.1590/1984-70332015v15n2n19>.
14. Urbani, M.H.; Acuña, C.A.; Doval, D.W.; Sartor, M.E.; Galdeano, F.; Blount, A.R.; Quesenberry, K.H.; Mackowiak, C.L.; Quarín, C.L. Registration of 'Boyero UNNE' Bahiagrass. *J. Plant Regist.* **2017**, *11*, 26–32. <https://doi.org/10.3198/jpr2016.04.0021crc>.
15. Jank, L.; Barrios, S.C.; do Valle, C.B.; Simeão, R.M.; Alves, G.F.; The value of improved pastures to Brazilian beef production. *Crop Pasture Sci.* **2014**, *65*, 1132. <https://doi.org/10.1071/CP13319>.
16. Nogler, G.A. Gametophytic apomixis. In *Embryology of Angiosperms*; Johri, B.M., Ed.; Springer-Verlag Press: Berlin/Heidelberg, Germany, 1984; pp. 475–518. ISBN 3-540-12739-9.
17. Moser, L.E.; Burson, B.L.; Sollenberger, L.E. Warm-season (C4) grass overview. In *Warm-Season (C4) Grasses*; Moser, L.E., Burson, B.L., Sollenberger, L.E., Eds.; John Wiley & Sons, Ltd.: Hoboken, NJ, USA, 2004; pp. 1–14.
18. Zilli, A.L.; Acuña, C.A.; Schulz, R.R.; Marcón, F.; Brugnoli, E.A.; Novo, S.F.; Quarín, C.L.; Martínez, E.J. Transference of natural diversity from the apomorphic germplasm of *Paspalum notatum* to a sexual synthetic population. *Ann. Appl. Biol.* **2019**, *175*, 18–28. <https://doi.org/10.1111/aab.12507>.
19. Ortiz, J.P.A.; Quarín, C.L.; Pessino, S.C.; Acuña, C.; Martínez, E.J.; Espinoza, F.; Hojsgaard, D.H.; Sartor, M.E.; Cáceres, M.E.; Pupilli, F. Harnessing apomorphic reproduction in grasses: What we have learned from *Paspalum*. *Ann. Bot.* **2013**, *112*, 767–787. <https://doi.org/10.1093/aob/mct152>.
20. Burton, G.W. Artificial fog facilitates *Paspalum* emasculation. *J. Am. Soc. Agron.* **1948**, *40*, 281–282. <https://doi.org/10.2134/agronj1948.00021962004000030010x>.
21. Quarín, C.L. Effect of pollen source and pollen ploidy on endosperm formation and seed set in pseudogamous apomorphic *Paspalum notatum*. *Sex. Plant Reprod.* **1999**, *11*, 331–335. <https://doi.org/10.1007/s004970050160>.
22. Martínez, E.J.; Urbani, M.H.; Quarín, C.L.; Ortiz, J.P. Inheritance of apospory in bahiagrass, *Paspalum notatum*. *Hereditas* **2001**, *135*, 19–25, 2001. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.2001.00019.x>.
23. Martínez, E.J.; Hopp, H.E.; Stein, J.; Ortiz, J.; Quarín, C.L. Genetic characterization of apospory in tetraploid *Paspalum notatum* based on the identification of linked molecular markers. *Mol. Breed.* **2003**, *12*, 319–327. <https://doi.org/10.1023/B:MOLB.0000006868.12568.32>.
24. Pozzi, F.I.; Acuña, C.A.; Quarín, C.L.; Felitti, S.A. GG13: A candidate gene related to seed development and viability from apomorphic *Paspalum notatum*. *Euphytica* **2021**, *217*, 148. <https://doi.org/10.1007/s10681-021-02881-1>.
25. Marcón, F.; Brugnoli, E.A.; Nunes, J.A.R.; Gutierrez, V.A.; Martínez, E.J.; Acuña, C.A. Evaluating general combining ability for agro-morphological traits in tetraploid bahiagrass. *Euphytica* **2021**, *217*, 208. <https://doi.org/10.1007/s10681-021-02942-5>.
26. Marcón, F.; Martínez, E.J.; Rodríguez, G.R.; Zilli, A.L.; Brugnoli, E.A.; Acuña, C.A. Genetic distance and the relationship with heterosis and reproductive behavior in tetraploid bahiagrass hybrids. *Mol. Breed.* **2019**, *39*, 89. <https://doi.org/10.1007/s11032-019-0994-3>.
27. Azevedo, V.R.; de Wadt, L.H.O.; Pedrozo, C.A.; de Resende, M.D.V. Coeficiente de repetibilidade para produção de frutos e seleção de matrizes de *Bertholletia excelsa* (Bonpl.) em castanhais nativos do estado do Acre. *Ciênc. Florest.* **2020**, *30*, 135. <https://doi.org/10.5902/1980509834304>.
28. Ambrósio, M.; Viana, A.P.; Ribeiro, R.M.; Preisigke, S.C.; Cavalcante, N.R.; Silva, F.A.da; Torres, G.X.; de Sousa, C.M.B. Genotypic superiority of *Psidium Guajava* S1 families using mixed modeling for truncated and simultaneous selection. *Sci. Agric.* **2021**, *78*, e20190179. <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2019-0179>.
29. Capistrano, M.D.C.; Andrade Neto, R.D.C.; Santos, V.B.D.; Lessa, L.S.; de Resende, M.D.V.; Mesquita, A.G.G.; Gurgel, F.D.L. Use of the REML/BLUP methodology for the selection of sweet orange genotypes. *Pesq. Agropec. Bras.* **2021**, *56*, e02032. <https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2021.v56.02032>.
30. de Resende, M.D.V. Software Selegen-REML/BLUP: A useful tool for plant breeding. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* **2016**, *16*, 4, 330–339. <https://doi.org/10.1590/1984-70332016v16n4a49>.
31. de Resende, M.D.V. *Genética Biométrica e Estatística no Melhoramento de Plantas Perenes*; Embrapa Informação Tecnológica: Brasília, Brazil; Embrapa Florestas: Colombo, Brazil, 2002; p. 975.
32. Carias, C.M.O.M.; Tomaz, M.A.; Ferrão, M.A.G.; da Fonseca, A.F.A.; Ferrão, R.G.; Gonçalves, L.S.A. Produtividade de grãos de cafeiro conilon de diferentes grupos de maturação pelo procedimento REML/BLUP. *Sem Ci Agr.* **2014**, *35*, 707. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n2p707>.
33. Silva, F.H.D.L.; Viana, A.P.; Santos, E.A.; Freitas, J.C.D.O.; Rodrigues, D.L.; Amaral, A.T.D. Prediction of genetic gains by selection indexes and REML/BLUP methodology in a population of sour passion fruit under recurrent selection. *Acta Sci. Agron.* **2017**, *39*, 183–190. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v39i2.32554>.
34. Bernardo, R. *Breeding for Quantitative Traits in Plants*; Stemma Press: Woodbury, MN, USA, 2010.
35. Robinson, G.K. That BLUP Is a Good Thing: The Estimation of Random Effects. *Stat. Sci.* **1991**, *6*, 15–32.
36. Bernardo, R. Best linear unbiased predictor analysis. In *The Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops*; Coors, J.G., Pandey, S., Eds.; ASSA-CSSA-SSSA: Madison, WI, USA, 1999; 269–276.

37. Ferreira Coelho, I.; Peixoto, M.A.; Santana Pinto Coelho Evangelista, J.; Silva Alves, R.; Sales, S.; de Resende, M.D.V.; Naves Pinto, J.F.; Fialho dos Reis, E.; Bhering, L.L. Multiple-trait, random regression, and compound symmetry models for analyzing multi-environment trials in maize breeding. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0242705. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242705>.
38. Zorić, M.; Gunjača, J.; Galić, V.; Jukić, G.; Varnica, I.; Šimić, D. Best Linear Unbiased Predictions of Environmental Effects on Grain Yield in Maize Variety Trials of Different Maturity Groups. *Agronomy* **2022**, *12*, 922. <https://doi.org/10.3390/agronomy12040922>.
39. Azevedo, C.V.G.; Val, B.H.P.; Araújo, L.C.A.D.; Juhász, A.C.P.; Mauro, A.O.D.; Unêda-Trevisoli, S.H. Genetic parameters of soybean populations obtained from crosses between grain and food genotypes. *Acta Sci. Agron.* **2020**, *43*. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v43i1.46968>.
40. de Albuquerque, J.R.T.; Lins, H.A.; dos Santos, M.G.; de Freitas, M.A.M.; de Oliveira, F.S.; de Souza, A.R.E.; da Silveira, L.M.; Henrique de Sousa Nunes, G.; Barros Júnior, A.P.; de Melo Jorge Vieira, P.F. Adaptability and stability of soybean (*Glycine max* L.) genotypes in semiarid conditions. *Euphytica* **2022**, *218*, 61. <https://doi.org/10.1007/s10681-022-03012-0>.
41. Atagul, O.; Calle, A.; Demirel, G.; Lawton, J.M.; Bridges, W.C.; Gasic, K. Estimating Heat Requirement for Flowering in Peach Germplasm. *Agronomy* **2022**, *12*, 1002. <https://doi.org/10.3390/agronomy12051002>.
42. Matias, F.I.; Valle, C.B.D.; Gouveia, B.T.; Moro, G.V.; Barrios, S.C.L. Using additive indices and principal components to select sexual genitors and hybrids of *Urochloa decumbens*. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* **2020**, *20*, e28082022. <https://doi.org/10.1590/1984-70332020v20n2a18>.
43. Moreno, J.A. Clima do Rio grande do Sul. *Bol. Geográfico Do Rio Gd. Do Sul* **1961**, *11*, 49–83.
44. Santos, H.G.; Jacomine, P.K.T.; Anjos, L.H.C.; Oliveira, V.Á.; Lumbreras, J.F.; Coelho, M.R.; Almeida, J.A.; Araújo Filho, J.C.; Oliveira, J.B.; Cunha, T. *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*, 5th ed.; Embrapa: Brasília, Brazil, 2018; p. 356.
45. Comissão de Química e Fertilidade do Solo RS/SC (CQFS RS/SC). *Manual de Adubação E Calagem Para Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina*, 10th ed.; SBCS/NRS: Porto Alegre, Brazil, 2004.
46. Quarín, C.L.; Urbani, M.H.; Blount, A.R.; Martinez, E.J.; Hack, C.M.; Burton, G.W.; Quesenberry, K.H. Registration of Q4188 and Q4205, Sexual Tetraploid Germplasm Lines of Bahiagrass. *Crop Sci.* **2003**, *43*, 745. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.0745>.
47. Fachinetto, J.M.; Schneider, R.; Hubber, K.G.C.; Dall’Agnol, M. Avaliação agronômica e análise da persistência em uma coleção de acessos de *Paspalum notatum* Flügge (Poaceae). *Agraria* **2012**, *7*, 189–195. <https://doi.org/10.5039/agraria.v7i1a1238>.
48. Machado, J.M.; Krycki, K.C.; Weiler, R.L.; Simioni, C.; Dall’Agnol, M. Reproduction mode and apospory expressivity of selected hybrids of *Paspalum notatum* Flügge. *J. Plant Breed. Crop Sci.* **2021**, *13*, 58–63. <https://doi.org/10.5897/JPBCS2021.0948>.
49. Weiler, R.L.; Dall’Agnol, M.; Simioni, C.; Krycki, K.C.; Pereira, E.A.; Machado, J.M.; Motta, E.A.M. Intraspecific tetraploid hybrids of *Paspalum notatum*: Agronomic evaluation of segregating progeny. *Sci Agric.* **2018**, *75*, 36–42. <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2016-0354>.
50. Resende, M.D.V. *Matemática e Estatística na Análise de Experimentos e no Melhoramento Genético*; Embrapa Florestas: Colombo, Brazil, 2007; p. 561.
51. Cruz, C.D. Genes Software-extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. *Acta Sci. Agron.* **2016**, *38*, 547–552.
52. Henriques, E.P.; Nunes, A.C.P.; de Moraes, M.L.T.; de Resende, M.D.V.; Sebbenn, A.M.; de Moraes, M.A. Seleção genética em teste de progêniens de irmãos completos de *Eucalyptus* para a produção de carvão vegetal. *Sci. For.* **2018**, *46*, 119. <https://doi.org/10.18671/scifor.v46n119.08>.
53. Krause, D.P.; Fachi, L.R.; Dalbosco, E.Z.; Campos, T.N.V.; Freitas, A.P.; Lima, K.S.; Krause, W. Estimativas de parâmetros genéticos e ganhos de seleção em progêniens de maracujazeiro via metodologia REML/BLUP. *Sci. Elec. Arch.* **2021**, *14*, 42–48. <https://doi.org/10.36560/14520211268>.
54. Lopes, R.R.; Franke, L.B.; de Souza, C.H.L.; Bertoncelli, P.; Graminho, L.A.; Pereira, É.A. Genetic parameters and predicted gains with selection of interspecific hybrids of *Paspalum* for seed production. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* **2018**, *18*, 284–291. <https://doi.org/10.1590/1984-70332018v18n3a42>.
55. de Resende, M.D.V.; Duarte, J.B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. *Pesqui. Agropecu. Trop.* **2007**, *37*, 182–194.
56. Costa, M.M.; Di Mauro, A.O.; Unêda-Trevisoli, S.H.; Arriel, N.H.C.; Bárbaro, I.M.; Da Silveira, G.D.; Muniz, F.R.S. Analysis of direct and indirect selection and indices in soybean segregating populations. *Crop Breed. Appl. Biotech.* **2008**, *8*, 47–55.
57. Nogueira, T.A.P.C.; Nunes, A.C.P.; dos Santos, G.A.; Takahashi, E.K.; de Resende, M.D.V.; Corradi, I.S. Estimativa de parâmetros genéticos em progêniens de irmãos completos de eucalipto e otimização de seleção. *Sci. For.* **2019**, *47*, 123. <https://doi.org/10.18671/scifor.v47n123.07>.

58. Santos, W.D.; Araújo, E.G.; Souza, D.C.L.; da Silva, J.R.; Recco, C.R.S.B.; de Moraes, M.L.T.; de Aguiar, A.V. Divergência genética entre progêneres de polinização aberta de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* a partir de caracteres quantitativos. *Pesq. Flor. Bras.* **2016**, *36*, 127. <https://doi.org/10.4336/2016.pfb.36.86.920>.
59. Resende, M.A.V.D.; Freitas, J.A.D.; Lanza, M.A.; Resende, M.D.V.D.; Azevedo, C.F. Divergência genética e índice de seleção via BLUP em acessos de algodoeiro para características tecnológicas da fibra. *Pesqui. Agropecu. Trop.* **2014**, *44*, 334–640. <https://doi.org/10.1590/S1983-40632014000300006>.
60. Luz, J.M.Q.; Bitar, C.A.; Oliveira, R.C.; Nascimento, A.R.; Nogueira, A.P.O. Desempenho e divergência genética de genótipos de tomate para processamento industrial. *Hortic. Bras.* **2016**, *34*, 483–490. <https://doi.org/10.1590/s0102-053620160406>.
61. Amaral Júnior, A.T.; Graça, A.J.P.; Vivas, M.; Viana, A.P.; Rodrigues, R. Prospecting of tomato hybrids for table and industry via mixed modeling and multivariate analysis. *Hortic. Bras.* **2017**, *35*, 20–25. <https://doi.org/10.1590/s0102-053620170104>.
62. Peixoto, J.V.M.; Maciel, G.M.; Pereira, L.M.; da Silveira, A.J.; Clemente, A.A.; de Souza Miranda, M.; de Oliveira, C.S. Genetic divergence in round tomato germplasm: Optimization and hierarchical methods. *Agraria* **2020**, *15*, 1–7. <https://doi.org/10.5039/agraria.v15i4a6708>.
63. Streck, E.A.; Aguilar, G.A.; Magalhães Júnior, A.M.; Facchinello, H.K.; Oliveira, A.C. Phenotypic variability in genotypes of irrigated rice via multivariate analysis. *Rev. Cienc. Agron.* **2017**, *48*, 101–109. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170011>.
64. Ferreira, D.S.; Canal, G.B.; Nascimento, M.; Nascimento, A.C.C.; Ferreira, J.M.S.; do Amaral, J.F.T.; Pereira, L.L.; Rodrigues, W.N.; Ribeiro, W.R.; Castanheira, D.T.; et al. Exploring the multivariate technique in the discrimination of *Coffea arabica* L. cultivars regarding the production and quality of grains under the effect of water management. *Euphytica* **2021**, *217*, 118. <https://doi.org/10.1007/s10681-021-02845-5>.
65. Lei, G.; Song, C.; Wen, X.; Gao, G.; Qi, Y. Chemical Diversity and Potential Target Network of Woody Peony Flower Essential Oil from Eleven Representative Cultivars (*Paeonia × suffruticosa* Andr.). *Molecules* **2022**, *27*, 2829. <https://doi.org/10.3390/molecules27092829>.
66. de Castro Sant'Anna, I.; Cruz, C.D.; Gouvêa, L.R.L.; Junior, E.J.S.; de Freitas, R.S.; de Souza Gonçalves, P. Genetic diversity associated with natural rubber quality in elite genotypes of the rubber tree. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 1081. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80110-w>.
67. Yang, M.; Yang, Z.; Yang, W.; Yang, E. Genetic Diversity Assessment of the International Maize and Wheat Improvement Center and Chinese Wheat Core Germplasms by Non-Denaturing Fluorescence In Situ Hybridization. *Plants* **2022**, *11*, 1403. <https://doi.org/10.3390/plants11111403>.
68. Mengistu, F.; Motoike, S.; Cruz, C.D. Molecular characterization and genetic diversity of the macaw palm ex situ germplasm collection revealed by microsatellite markers. *Diversity* **2016**, *8*, 20. <https://doi.org/10.3390/d8040020>.
69. Kumar, V.; Lade, S.; Yadav, H.K. Evaluation of genetic diversity in *Lepidium sativum* L. germplasm based on multivariate analysis. *Genet. Resour. Crop Evol.* **2021**, *68*, 809–820. <https://doi.org/10.1007/s10722-020-01024-0>.
70. Ihsan, M.; Nazir, N.; Ghafoor, A.; Khalil, A.A.K.; Zahoor, M.; Nisar, M.; Khames, A.; Ullah, R.; Shah, A.B. Genetic Diversity in Local and Exotic *Avena sativa* L. (Oat) Germplasm Using Multivariate Analysis. *Agronomy* **2021**, *11*, 1713. <https://doi.org/10.3390/agronomy11091713>.
71. Rasmusson, D.C.; Phillips, R.L. Plant breeding progress and genetic diversity from de novo variation and elevated epistasis. *Crop Sci.* **1997**, *37*, 303–310.
72. Brito, O.G.; Júnior, V.C.A.; Azevedo, A.M.; Donato, L.M.S.; Silva, A.J.M.; Oliveira, A.J.M. Genetic divergence between half-sibling progenies of kale using different multivariate approaches. *Hortic. Bras.* **2021**, *39*, 178–185. <https://doi.org/10.1590/s0102-0536-20210208>.

### 3. CAPÍTULO III<sup>2</sup>

#### **REML/BLUP methodology for selection intraspecific hybrids of *Paspalum notatum* Flügge by multivariate analysis**

DIÓGENES CECCHIN SILVEIRA<sup>(1)</sup> (<https://orcid.org/0000-0001-6653-4839>), ROBERTO LUIS WEILER<sup>(1)</sup> (<https://orcid.org/0000-0002-1063-6374>), ANDRÉ PICH BRUNES<sup>(1)</sup> (<https://orcid.org/0000-0002-2430-8232>), CARINE SIMIONI<sup>(1)\*</sup>, ANNAMARIA MILLS<sup>(2)</sup> (<https://orcid.org/0000-0002-9194-4597>), JÚLIA LONGHI<sup>(1)</sup> (<https://orcid.org/0000-0002-6608-3836>), MARCOS VINICIUS SCHIAVONI CORRÊA<sup>(1)</sup> (<https://orcid.org/0000-0003-0208-495X>), CARLA NAUDERER<sup>(1)</sup> (<https://orcid.org/0000-0002-9069-6018>) ARTHUR VALENTINI<sup>(1)</sup> (<https://orcid.org/0000-0003-3661-3207>), WELITON MENEZES DOS SANTOS<sup>(1)</sup> (<https://orcid.org/0000-0002-8937-9998>), MIGUEL DALL'AGNOL<sup>(1)</sup> (<https://orcid.org/0000-0001-5471-1850>)

<sup>1</sup>Forage Department, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre 90040-060, Brazil

<sup>2</sup>Field Research Centre, Lincoln University, Lincoln 7647, New Zealand

**Keywords:** Bahiagrass, Best Linear Unbiased Prediction, Genetic correlation, Genetic parameters, Heritability, Restricted/Residual Maximum Likelihood

**Running read:** REML/BLUP for selection hybrids of bahiagrass

**Academy section:** Crop Sciences

**\*Correspondence to:** Carine Simioni. Email: [carine.simioni@ufrgs.br](mailto:carine.simioni@ufrgs.br)

<sup>3</sup> Artigo submetido à revista Anais da Academia Brasileira de Ciências em Fevereiro de 2023 e aprovado em Julho de 2023.

## ABSTRACT

The *Paspalum* genus has potential for further genetic improvement because of its adaptability to different ecosystems and production of high yields for grazing livestock. We estimate the genetic parameters of 195 intraspecific *P. notatum* hybrids using Restricted Maximum Likelihood (REML), followed by selection based on Best Linear Unbiased Prediction (BLUP) through multivariate analysis. The intraspecific hybrids studied showed considerable genetic variability in the evaluated forage traits, displaying their potential for progression in subsequent stages of the genetic improvement program. Notably, plant height emerged as an important trait for indirect selection to enhance forage production. The use of the REML/BLUP procedure proves to be a robust tool for data analysis, particularly for perennial species. Furthermore, multivariate analysis based on BLUPs should be used in the selection process within breeding programs. Based on the BLUP values, hybrids D3, D16, C17, C2 and B17 were identified as superior for forage production, and they hold promise for future breeding programs for future breeding initiatives aimed at direct selection to improve yield.

### 3.1. INTRODUCTION

In South America, the *Paspalum* genus includes many species with high potential forage production and nutritional quality (Sartor et al. 2011). This diversity stems from the existence of different modes of reproduction and ploidy levels within the genus (Ortiz et al. 2013). Within the southern region of Brazil, these species form an integral part of the natural grasslands in the Pampa biome, recognized for their exceptional foraging potential (Steiner et al. 2017). Moreover, these species exhibit substantial scope for genetic enhancement, as highlighted by previous studies (Motta et al. 2017), owing to their favorable forage traits suitable for animal production and an adaptability to different ecosystems (Novo et al. 2016). Additionally, the utilization of native forage species in pastoral agriculture systems not only contributes to the stability and conservation of natural resources but also reduces the costs and risks associated with livestock production, ultimately fostering long-term sustainability (Gasparetto et al. 2021).

*Paspalum notatum* Flügge, a native perennial grass species in South America, holds significant prominence within the genus (Chen et al. 2022). Its distribution primarily encompasses tropical and subtropical regions (Silveira et al. 2014), where it has greater economic importance (Fachinetto et al. 2021), particularly in terms of forage utilization and ground cover (Blount & Acuña 2009, Wawu et al. 2021). This grass species is renowned for its high forage yields (Steiner et al. 2017, Machado et al. 2019), making it a valuable resource. Recently, Motta et al. (2021) demonstrated that when intercropped with legumes, the dry matter production of *P. notatum* mixture was comparable to that of a monoculture fertilized with 240 kg N ha<sup>-1</sup>, further emphasizing its potential for enhanced productivity.

Considering the substantial economic importance and remarkable forage potential of this species, the genetic improvement programs for forage species, including this particular one, they should include several critical steps. These steps encompass the selection of parental plants to generate genetic variability and the identification of desirable recombinants with specific

traits (Resende & Resende 2013, Asfaw et al. 2021). Therefore, it becomes essential to comprehend the genetic variability, heritability, and genetic correlation among the target traits, enabling the selection of superior genotypes (Majidi et al. 2009, Fogaça et al. 2012). In the context of pastoral forages, where economically important traits such as forage production are genetically complex with quantitative inheritance and influenced by genotype  $\times$  environment interactions (Amini et al. 2013, Saeidnia et al. 2020), the genetic improvement of native forage species. Presents a sustainable alternative for optimizing livestock production (Silveira et al. 2022a).

The adoption of more efficient and robust statistical methodologies holds immense importance in guiding the process of genetic improvement, especially in perennial species (Capistrano et al. 2021). Accurate estimation of genetic parameters, which yield reliable predictions and information on genetic values, is crucial for the success of plant breeding programs (Resende 2016). Therefore, the combined use of Restricted Maximum Likelihood (REML) and Best Linear Unbiased Prediction (BLUP) emerges as the most effective approach for estimating genetic parameters and predicting genotypic values (Piepho et al. 2008, Faville et al. 2018). In the analysis of perennial plants, the REML/BLUP methodology is considered standard practice due to its accuracy (Silveira et al. 2022b), even in the context of unbalanced experimental designs (Piepho et al. 2008, Abu-Ellail et al. 2018). Recently, the REML/BLUP procedure was employed to determine genetic parameters and predict genotypic gain in forage traits of *P. notatum* (Marcón et al. 2021, Silveira et al. 2022b).

The objective of this study was to estimate the genetic parameters of a population consisting of intraspecific hybrids of *P. notatum* using REML and subsequently conduct selection based on BLUP through multivariate analysis.

### 3.2. MATERIAL AND METHODS

#### **Experimental site**

The experiment was conducted in the municipality of Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil (latitude 30°29'26" S, longitude 51°06'42" W, altitude 62 m above sea level). The local climate is classified as (Cfa) according to the Köppen classification (Moreno 1961), characterized as subtropical with no distinct dry season, and the average air temperature of the hottest month exceeds 22 °C. The long-term (1970-2009) average minimum and maximum annual air temperatures in the region were 14.0 °C and 24.2 °C, respectively (Table I), resulting in an average annual air temperature of 19.6 °C. The average annual rainfall in the area is 1400 mm. Detailed information on the average monthly minimum and maximum air temperature, as well as rainfall during the experimental period, is provided in Table I.

The soil at the experimental site was classified as an Ultisol according to the USDA Soil taxonomy (Santos et al. 2018b). Prior to establishment the experiment, soil samples were collected from a depth of 0-0.2 m. Test results revealed the following parameters: clay content of 15%, pH (H<sub>2</sub>O) of 5.4, pH measured using the SMP method of 6.3, phosphorus(P) level of 15.6 mg dm<sup>-3</sup>, potassium (K) level of 151.4 mg dm<sup>-3</sup>, and organic matter content of 2.7%. Fertilizer requirements were determined based on the recommendations of the Soil Chemistry and Fertility Commission (CQFS 2004). Urea, containing 46% nitrogen (N), was applied at a rate equivalent to 160 kg N ha<sup>-1</sup>.

#### **Plant material and experimental design**

The plant material for this study consisted of three female tetraploid sexual genotypes, namely C4-4X (Quarin et al. 2001), Q4188 and Q4205 (Quarin et al. 2003), obtained from the Botanical Institute of Northeast Argentina (IBONE), Corrientes, Argentina. These genotypes were crossed with two male parent apomictic ecotypes, 'Bagual' and 'André da Rocha', which are elite tetraploid germplasm native to the state of Rio Grande do Sul (Table II). The crosses

were performed using the methodology described by Burton (1948) and later adapted by Weiler et al. (2018) to produce hybrid progeny. The reproductive mode was determined following the approach of Weiler et al. (2017). A total of 195 genotypes of *P. notatum* were evaluated, which included 189 hybrids, the female parents (C44X, Q4188 and Q4205), male parents ('André da Rocha' and 'Bagual'), and the commercially available cultivar 'Pensacola', which served as a control.

Seeds were germinated on Germitest paper-lined Petri dishes in a germination chamber under controlled temperature and day length condition: 8 h of light at 30 °C and 16 h of darkness at 20 °C. Germinated seedlings were transplanted into honeycomb trays until they had five fully expanded leaves. Seedlings were then transplanted into pots filled with Carolina Soil™, a commercial substrate composed of peat, vermiculite, organic residue and limestone. When the plants had four or more tillers, the tillers were separated into four different pots to obtain four clones, which served as replicates in the field.

The field experiment followed a randomized complete block design with four replicates and was established at the UFRGS (Federal University of Rio Grande do Sul) Experiment Station. The clones were transplanted into the field with a spacing of 1.0 m within and between rows on 11/26/2010. Sprinkler irrigation was applied after sowing to facilitate seedling establishment.

### **Procedures and traits**

Throughout the 2-year evaluation period, a total of five cuts were performed on the following dates: 1st cut on 02/22/2011, 2nd cut on 04/06/2011, 3rd cut on 11/17/2011, 4th cut on 01/09/2012, and 5th cut on 03/16/2012. Various traits were quantified, including plant height (PH, cm), tiller population density (TPD, tiller population density<sup>-1</sup>), leaves dry mass (LDM, g plant<sup>-1</sup>), stem dry mass (SDM, g plant<sup>-1</sup>), inflorescence dry mass (IDM, g plant<sup>-1</sup>), total dry mass

(TDM, g plant<sup>-1</sup>), and growth habit (GH). Non-destructive observations were made before each cutting event.

Plant height was measured from the soil surface to the curvature of the leaves, while TPD was determined by counting all tillers with expanded leaves. Growth habit (GH) was classified on a scale of 1 to 5, where 1 represented a prostrate habit and 5 represented an erect habit. Plants were cut when they reached an average height of 20 cm, leaving a residual height of 5 cm. After cutting, the harvested material was sorted into morphological components: leaves (leaf blades), stems (including stems and sheaths), and inflorescences. The samples were then dried in an oven at 60 °C until constant weight was achieved. The leaf-to-stem ratio (LSR) was subsequently calculated based on the LDM and SDM values.

### **Statistical analysis**

The estimation of variance components and prediction of breeding values were performed using the Restricted Maximum Likelihood (REML) and Best Unbiased Linear Prediction (BLUP) methodology. Furthermore, the genetic correlation (*r*) between forage characters was estimated by utilizing genotypic values (hybrid means estimated by BLUP). The correlation matrix was generated using the "corrplot" statistical package (Wei et al 2017) within the R environment (R Core Team 2019).

The statistical analysis was performed using a complete randomized block model, which considered data from an individual location, multiples harvests, and one observation per plot. The model used in this study can be represented as:

$$y = X_r + Z_g + W_p + T_i + e$$

Where: *y* is the data vector; *r* is the vector of the effects of the measurement-repetition combinations (assumed to be fixed) added to the overall mean; *g* is the vector of the genotypic effects (assumed to be random); *p* is the vector of permanent environment effects (plots in this case) (random); *i* is the vector of the effects of the genotypes x measurements interaction, and

$e$  is the vector of errors or residuals (random). The capital letters represent the incidence matrices for the aforementioned effects.

The mixed model equations are equivalent to:

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z & X'W & X'T \\ Z'X & Z'Z + I^{-1}\lambda_1 & Z'W & Z'T \\ W'X & W'Z & W'W + I^{-1}\lambda_2 & W'T \\ T'X & TZ & TW & T'T + I^{-1}\lambda_3 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \tilde{m} \\ \tilde{g} \\ \tilde{p} \\ \tilde{i} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \\ W'y \\ T'y \end{bmatrix}$$

In which:

$$\lambda_1 = \frac{1-\rho}{h^2} = \frac{\hat{\sigma}_e^2}{\hat{\sigma}_g^2}; \lambda_2 = \frac{1-\rho}{c^2} = \frac{\hat{\sigma}_e^2}{\hat{\sigma}_c^2}; \lambda_3 = \frac{1-\rho}{p^2} = \frac{\hat{\sigma}_e^2}{\hat{\sigma}_p^2};$$

Individual heritability in the broad sense within the block is given by  $h^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}_c^2 + \hat{\sigma}_p^2 + \hat{\sigma}_e^2}$

The individual repeatability in the block is given by  $\rho = \frac{\hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}_c^2 + \hat{\sigma}_p^2}{\hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}_c^2 + \hat{\sigma}_p^2 + \hat{\sigma}_e^2}$

The coefficient of determination of the permanent effects of the plot is given by

$$P^2 = \frac{\hat{\sigma}_p^2}{\hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}_c^2 + \hat{\sigma}_p^2 + \hat{\sigma}_e^2}$$

The common environmental correlation between plots is given by  $C^2 = \frac{\hat{\sigma}_c^2}{\hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}_c^2 + \hat{\sigma}_p^2 + \hat{\sigma}_e^2}$

The iterative estimators of the variance components in REML were obtained using the Expectation-Maximization (EM) algorithm (Dempster et al., 1977).

$$\hat{\sigma}_e^2 = [y'y - \widehat{m}'X'y - \widehat{g}'Z'y - \widehat{p}'W'y - \widehat{i}'T'y]/[N-r(X)]$$

$$\hat{\sigma}_g^2 = [\widehat{g}'\Gamma^{-1}\widehat{g} + \hat{\sigma}_e^2 \operatorname{tr}(\Gamma^{-1}C^{22})]/q$$

$$\hat{\sigma}_p^2 = [\hat{p}' p + \hat{\sigma}_e^2 \operatorname{tr} C^{33}] / s$$

$$\hat{\sigma}_i^2 = [\hat{i}' i + \hat{\sigma}_e^2 \operatorname{tr} C^{44}] / q$$

In which  $C^{22}$ ,  $C^{33}$  and  $C^{44}$  comes from:

$$C^{-1} = \begin{bmatrix} C_{11} & C_{12} & C_{13} & C_{14} \\ C_{21} & C_{22} & C_{23} & C_{24} \\ C_{31} & C_{32} & C_{33} & C_{34} \\ C_{41} & C_{42} & C_{43} & C_{44} \end{bmatrix}^{-1} = \begin{bmatrix} C^{11} & C^{12} & C^{13} & C^{14} \\ C^{21} & C^{22} & C^{23} & C^{24} \\ C^{31} & C^{32} & C^{33} & C^{34} \\ C^{41} & C^{42} & C^{43} & C^{44} \end{bmatrix}$$

Where:  $C$  = matrix of coefficients of the mixed model equations;  $\operatorname{tr}$  = matrix trace operator;  $r(X)$  = rank of matrix  $X$ ;  $N$  = total number of data;  $q$  = number of individuals;  $s$  = number of genotype x harvests. The variance components associated with the model effects correspond to:  $\hat{h}_g^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_f^2}$  = heritability of individual plots in the broad sense, that is, of total genotypic effects;  $C_p^2$  = determination coefficient of plot effects.

$C_{gm}^2 = \frac{\hat{\sigma}_{int}^2}{\hat{\sigma}_f^2}$  = coefficient for determining the effects of the genotypes x measurements

interaction;

$r_{gmed} = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{(\hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}_{int}^2)}$  genotypic correlation through measurements

$h_{mg}^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_g^2 + \left( \frac{\hat{\sigma}_e^2}{b} \right) + \left( \frac{\hat{\sigma}_c^2}{nb} \right)}$  genotype mean heritability;  $n$ : number of plots;  $b$ : number of blocks

$\hat{r}_{gg} = \sqrt{h_{mg}^2}$  = accuracy in genotype selection

$CV_g (\%) = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_g^2}}{\mu} * 100$  = coefficient of genotypic variation

$CV_e (\%) = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_e^2}}{\mu} * 100$  = coefficient of environmental variation

$CV_r = \frac{CV_g}{CV_e}$  = relative variation coefficient

The gain calculated via selection between genotypes was given by

$$\text{Gain (\%)} = 100 \times \left( \frac{\text{GAs} - \text{OGm}}{\text{OGm}} \right)$$

Where GAs is the genotypic mean of the selected and OGm is the general genotypic mean.

The genetic divergence among the cultivars was estimated using the genetic distances matrix of Mahalanobis (Resende 2007). Predicted values were obtained from the variance and covariance matrix of these genetic values, calculated as follows:  $D_{ii'}^2 = \delta' G \delta$ , where  $D_{ii'}^2$  represents the Mahalanobis distance between genotypes  $i$  and  $i'$ ,  $G$  is the matrix of genotypic variance and covariance,  $\delta$  is the vector  $[d_1, d_2, \dots, d_j]$ , with  $d_j = Y_{ij} - Y_{\bar{i}j}$ , and  $Y_{ij}$  represents the mean of the  $i$ -th genotype in relation to the  $j$ -th variable.

Grouping of genotypes was performed using the hierarchical method unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA) and Tocher's Optimization method (Rao 1952). The importance of forage characteristics was evaluated using the methodology of Singh (1981), which assesses the total observed dissimilarity for each characteristic, estimated through the participation of the components of the generalized Mahalanobis distance ( $D^2$ ).

Principal component analysis (PCA) was conducted to eliminate characteristics with less importance based on the criterion of Jolliffe's criterion (1972, 1973). This method identifies variables with greater weight in the last components of lesser importance. The criteria for discarding the main components was set at 80%. These methodologies were employed to assess similarities between the variables with lower participation according to Singh's method (1981) and the variables discarded by the PCA analysis.

All analyzes were conducted using the SELEGEN-REML/BLUP genetic-statistical computational application developed by Resende (2016) and the GENES software package (Cruz 2016) for obtaining multivariate analyzes.

### 3.3. RESULTS

Deviation analysis indicated that all traits exhibited a significant genotypic effect, as determined by the likelihood ratio test (LRT) at a 1% probability level (Table III). This finding confirmed the existence of genetic variability among the hybrids evaluated. The genotype x environment (GxE) interactions were also found to be significant ( $p<0.01$ ) for all traits studied, except for LSR. This suggests that hybrid selection strategies can be employed across both years to achieve genetic gains.

The experimental variation coefficient ( $CV_e$ ) ranged from 16.9% for PH to 295% for LSR, indicating substantial variation in trait measurements within the experimental setup. The coefficients of genetic variation ( $CV_g$ ) ranged from 13.2% for GH to 78.8% for LSR. Notably, only the PH trait displayed a higher genetic variation coefficient ( $CV_g$ ; 22.1%) compared to the experimental variation coefficient ( $CV_e$ ; 16.9%), indicating a dominant role of genetic effects in determining this trait. Consequently, the PH characteristic exhibited a favorable scenario for generating genetic gains among the evaluated hybrids.

The relative expressions of environmental ( $\sigma_e^2$ ), genotype x harvest variance ( $\sigma_{gm}^2$ ), permanent environment variance ( $\sigma_{perm}^2$ ), and genotypic ( $\sigma_g^2$ ) variance are depicted in Figure 1. The estimates of genotypic variances, compared to those of environmental, genotype x measurements, and permanent environment variances, provided evidence of genetic variability for the PH trait.

Regarding genotype x harvest variance ( $\sigma_{gm}^2$ ), the traits LDM (39.1%), TDM (36.6%), SDM (32.6%), and IDM (32.3%) exhibited the highest percentage variance. This indicates that these traits were significantly influenced by interaction with the environment. For permanent environment variance ( $\sigma_{perm}^2$ ), the traits PH (15.9%), SDM (12.9%), IDM (12.0%), and TDM (11.1%) showed the highest values, indicating substantial variation attributable to permanent environmental factors. Finally, the genetic variance for PH was estimated at 47.7%, making it

the trait with the highest genetic variance. This was followed by SDM (26.8%), GH (25.4%), TDM (24.6%), and LDM (21.8%). These results highlight the contribution of genetic factors to the variation observed in these traits.

Once the variance components were obtained (Figure 1), several parameters were estimated. The heritability in the broad sense ( $H^2$ ) was calculated, and it ranged from 0.06 (LSR) to 0.48 (PH) (Figure 2). These values supported the findings from the variance components analysis, indicating that environmental variance had a greater influence on the hybrids compared to genetic variance (Figure 1). The repeatability at the plot level ( $\rho$ ) varied from 0.14 (LSR) to 0.64 (PH) (Figure 2). The coefficient of determination of plot effects ( $C_{\text{perm}}^2$ ) ranged from 0.05 (GH) to 0.16 (PH) (Figure 2), providing insights into the contribution of permanent environmental effects to the overall variation. The coefficient for determining the effects of the genotype x measurement interaction ( $C_{\text{gm}}^2$ ) ranged from 0.01 (LSR) to 0.39 (LDM), indicating the extent to which the interaction between genotypes and measurements influenced the trait variation. The genotypic correlation through measurements ( $r_{\text{gmed}}$ ) ranged from 0.29 (TPD) to 0.85 (LSR), reflecting the level of consistency in the performance of genotypes across different measurements. Finally, the mean genotype heritability ( $h_{\text{mg}}^2$ ) ranged from 0.32 (LSR) to 0.80 (PH) (Figure 1). This parameter represents the proportion of phenotypic variation attributed to the genetic effects of individual genotypes, indicating their potential for transmitting desirable traits to the next generation.

The genetic correlation coefficients between forage traits are presented in Figure 3. Total dry matter production (TDM) exhibited strong positive correlations with LDM ( $r = 0.95$ ,  $p < 0.01$ ), TPD ( $r = 0.91$ ,  $p < 0.01$ ), SDM ( $r = 0.87$ ,  $p < 0.01$ ), and IDM ( $r = 0.80$ ,  $p < 0.01$ ). It also showed a moderate correlation with PH ( $r = 0.67$ ,  $p < 0.05$ ). The correlation between TDM and LSR was negative ( $r = -0.24$ ), but it was not statistically significant (Figure 3). Leaf dry matter (LDM) exhibited strong positive correlations with the TPD trait ( $r = 0.86$ ,  $p < 0.01$ ) and moderate

correlations with SDM ( $r = 0.68, p < 0.05$ ), PH ( $r = 0.68, p < 0.05$ ), and IDM ( $r = 0.60, p < 0.05$ ). Plant height (PH), which showed significant genetic control (Figure 1) and high heritability (Figure 2), had moderate correlations with LDM ( $r = 0.68, p < 0.05$ ), TDM ( $r = 0.67, p < 0.05$ ), and TPD ( $r = 0.54, p < 0.05$ ) (Figure 3).

Estimates of the relative contribution of traits to genetic divergence ranged from 5.51 (TPD) to 21.13 (GD) (Figure 4). The traits GH (21.1%), SDM (16.6%), IDM (14.5%), and TDM (13.1%) exhibited the highest discrimination power among the genotypes evaluated (Figure 4). These four traits together contributed to 65.4% of the total genetic diversity, indicating that they are sufficient to quantify the genetic variability among *P. notatum* hybrids. On the other hand, PH, LDM, LSR, and TPD made smaller contributions, accounting for 34.6% of the total genetic diversity (Figure 4).

The first three principal components (PC1-PC3) explained 89.5% of the total variation across all evaluated traits (Table IV). The remaining principal components (PC4-PC8) had eigenvalues ( $\lambda_j$ )  $< 0.7$  (Table IV), indicating that variables with greater weight in these components of lesser importance can be discarded. Based on this analysis, it is recommended to exclude IDM, PH, TPD, SDM, and TDM be discarded from future genetic diversity studies, as they contribute little to discrimination between the studied hybrids (Table IV).

For the genetic distance matrix based on the BLUP values, two clustering methods were employed: the Tocher optimization method (Table V) and the hierarchical UPGMA method (Figure 5). The Tocher optimization method resulted in the identification of five groups (Table V), while the UPGMA hierarchical clustering method identified six groups (Figure 5). However, genotypes D3 (Group V) and D23 (Group IV) remained in separate groups regardless of the clustering method used. These two genotypes exhibited the highest and third-highest average TDM among all 195 hybrids evaluated. Group II, formed by Tocher's optimization method (Table V), had the second-highest average TDM. Groups V, II and IV, as identified by

the Tocher optimization method, demonstrated the highest values for the commercially and agronomically important forage traits: TDM, LDM and PH (Table V). The cophenetic correlation coefficient, which measures the representativeness of the data within the dendrogram dissimilarity matrix, was 0.77. This coefficient indicates a satisfactory fit in the graphical representation of the dendrogram (Figure 5). Furthermore, the distortion and stress were calculated as 7.47% and 27.3%, respectively.

Based on estimates of genetic gains predicted via BLUP, a selection process was conducted to classify the best twenty genotypes, representing approximately 10% of the total genotypes evaluated (Table VI). For the LDM trait, the genetic gain (Gain; Table VI) ranged from 37.6 (C15) to 77.2 g plant<sup>-1</sup> (D3). The D3 hybrid exhibited a 124% increase in the new average (ISG; Table VI). The top 20 hybrids, on average, showed a 60.4% increase in LDM compared to the average of the total studied population of 195 genotypes. Regarding the LSR trait, the genetic gain ranged from 11.4 (C4) to 26.8 g plant<sup>-1</sup> (A24), with the A24 hybrid more than tripling the new average (ISG; Table VI). The TDM trait ranged from 59.7 (C15) to 105.3 g plant<sup>-1</sup> (D3), and the D3 hybrid more than doubled the new average (ISG 119.7%; Table VI). Genetic gain for the TPD trait ranged from 32.6 (B26) to 102.2 tillers plant<sup>-1</sup> (D23), with the D23 hybrid raising the new mean by 119.9% (ISG; Table VI). Finally, the genetic gain for plant height (PH) ranged from 5.91 (C23) to 8.04 cm plant<sup>-1</sup> (D17), with the hybrid D17 increasing the average by 53.5% (ISG; Table VI). The D3 hybrid ranked first for the LDM and TDM traits, second for TPD and sixth for PH (Table VI). The remaining characters were comparatively less important, and the results are provided for completeness in Table VI.

### **3.4. DISCUSSION**

All variables, except for the leaf/stem ratio (LSR) trait, showed significant genetic effects and genotype-by-environment (GxE) interaction, indicating the presence of genetic variability

among the hybrids (Table III). Notably, the plant height (PH) trait displayed a greater genetic influence compared to other traits (Figure 1), indicating its potential for inclusion in forage breeding programs. This underscores the genetic potential of the *P. notatum* population studied.

The coefficient of experimental variation ( $CV_e$ ) is commonly used to assess experimental precision (Albuquerque et al. 2022). In this study, the estimated  $CV_e$  values for the evaluated traits (Table II) exceeded the observed range in previous studies with *P. notatum* (Machado et al. 2021, Silveira et al. 2022b). Literature suggested that an increase in  $CV_e$  indicates greater phenotypic variation (Paw et al. 2020, Wang et al. 2022). Since expected gain are directly correlated with the existence and magnitude of genetic variation (Bush et al. 2013), the evaluated hybrids demonstrated significant variability (Table III). When selecting genotypes for breeding purposes, it is crucial to maximize genetic gain without reducing genetic variability (Santos et al. 2022). Here, the quantification of genetic ( $CV_g$ ) and relative ( $CV_r$ ) coefficients of variation can aid in designing future strategies and ensuring a successful selection within a breeding program (Paw et al. 2020, Riva et al. 2020).

The presence of  $CV_g$  values exceeding  $CV_e$  values indicates promising genetic gains for the PH trait, with a  $CV_r > 1$ , and for the TDM trait, with a  $CV_r$  close to 1 (Table III). A  $CV_r$  values above 1 signifies greater certainty in the selection process (Silveira et al. 2022a). The population's variability consists of both hereditary characteristics represented by  $CV_g$  and non-hereditary characteristics represented by  $CV_e$  (Hamidou et al. 2018). These  $CV_g$  findings, expressed as a percentage of the overall mean for each trait, are crucial for understanding the genetic structure of the population, as they demonstrated the amount of variability present and allows for estimates of genetic gains.

The results of this study revealed a high level of genetic control, as indicated by the by genotypic variance ( $\sigma_g^2$ ) in Figure 1 and the mean genotype heritability ( $h_{mg}^2$ ) in Figure 2, in the *P. notatum* hybrids. This suggests the potential for achieving genetic gains through

selection, particularly for the plant height (PH) and total dry matter (TDM) traits. Comparing the obtained results with the heritability scale established by Resende (2015), it can be expected that the hybrids would exhibit good genetic gains, given the substantial genetic control observed for the PH trait. However, for the other traits, there was a strong influence of environmental factors, as depicted in Figure 1 and Figure 2, indicating that in addition to genetic factors, environmental conditions strongly influenced the performance of the hybrids (Santos et al. 2018a, Santos et al. 2022). The repeatability parameter ( $\rho$ ) exceeded 40% only for the PH trait (Figure 2). According to Almeida et al. (2019), a repeatability value >40% suggest the possibility of identifying superior genotypes, considering the significant variance among treatments based on the average genotypic value.

In the context of forage production, the complexity arises from its dependence on multiple factors and their interactions. Therefore, understanding these interactions becomes crucial for the genetic improvement of any species (Bonilla et al. 2022). In this regard, it is essential to comprehend the traits closely associated with forage production for the selection of superior genotypes. Correlation coefficients play a significant role in indicating the relationship and nature of the association between the traits of interest for the breeding program (Thondaiman & Rajamani 2014). The results obtained for  $CV_r$  (Table II),  $\sigma_g^2$  (Figure 1) and  $h_{mg}^2$  (Figure 2) revealed a strong genetic control for the PH trait, suggesting the possibility of indirect selection to enhance forage production. Comparing the results obtained with the correlation scale established by Silveira et al. (2021), genetic correlations indicated moderate to strong positive associations between the PH trait and leaf dry matter (LDM), total dry matter (TDM) and tillers population density (TPD) forage characteristics (Figure 3). As expected, direct selection based on TDM exhibited very strong associations with the LDM and TPD (Figure 3). The genetic correlation results (Figure 3) were highly consistent with those reported by Machado et al. (2021). It is worth noting that high positive genetic correlations can arise due to pleiotropy or

genetic linkage, causing transient correlations, particularly in populations resulting from crosses between divergent parents (Falconer & Mackay 1996). These findings demonstrated the potential for indirect selection through the PH trait to increase TDM, given its strong genetic control within the studied population compared to the other traits (Figure 1).

Two methods were employed to assess the relative contribution of observed traits to genetic divergence. Singh's method (1981) identified four traits (GH, SDM, IDM and TDM; Figure 4) that made a significant contribution to discrimination among the evaluated hybrids. Subsequent principal component analysis (PCA) indicated that three traits (TDM, GH and LSR; Table III) would suffice to capture the greatest genetic dissimilarity among the hybrids. The disparity between the two methodologies underscores the importance of employing both approaches in studies focusing on characterization and genetic diversity (Steiner et al. 2022). Singh's method (1981) quantifies the “weight” of a variable in the composition of the Mahalanobis generalized distance matrix. Accordingly, this method considers highly variable traits as crucial and permits the exclusion of traits that contribute minimally to dissimilarity. This reduces the workload, time, and additional costs associated with data collection (Valadares et al. 2018). Singh's (1981) method has been previously used in *P. notatum* evaluations (Machado et al. 2021, Steiner et al. 2022) to identify forage production and morphological traits responsible for greater discrimination among the studied genotypes. Conversely, PCA analysis eliminates variables that carry greater “weight” in the less important components (Jolliffe 1972, 1973). Jolliffe's pioneering work (1972, 1973) focused on character discards. The author examined four discard methods using simulated (Jolliffe 1972) and real (Jolliffe 1973) data and concluded that the procedure was satisfactory when the number of discarded traits equaled the number of principal components with eigenvalues  $<0.7$ . Based on this criterion, components PC3-PC8 (Table III) were discarded in this study.

The utilization of phenotypic traits to assess genetic variability is the oldest, direct, and most practical method employed in breeding programs (Wang et al. 2022). When combined with multivariate analyzes, these traits have become routine approaches in genetic improvement programs, particularly for the selection of divergent parents (Leite et al. 2018). Principal component analysis and cluster analysis are considered the primary multivariate statistical tools utilized to evaluate genetic dissimilarity based on phenotypic traits (Denwar et al. 2019, Boutsika et al. 2021). In order to quantify the dissimilarity among the studied hybrids, a cluster analysis was conducted, as the formation of groups is crucial for parent identification, especially in recommending superior genotypes. Parent selection can rely on the magnitude of dissimilarity among hybrids for the traits of interest. In this evaluation, two types of grouping were performed. Cluster analysis using the Tocher optimization method (Table IV) revealed a high concentration of hybrids in Group I, encompassing 81.0% of the genotypes studied. Group II contained 15.4%, Group III 2.56%; while Groups IV and V contained a single genotype each, representing 0.51% of the total number of genotypes evaluated. The UPGMA hierarchical grouping method exhibited high concentration in Group I (75.4% of the genotypes), followed by Group V (16.4%), Group II (6.15%), Group III (1.02%), and Groups IV and VI with 0.51% (Figure 5). Interestingly, a greater number of groups was expected given the large number of genotypes evaluated. The data from the Mahalanobis genetic matrix (D2) demonstrated a satisfactory fit in the dendrogram (Figure 5). Silveira et al. (2022b) suggested that a cophenetic correlation index above 0.70 indicates satisfactory results. The high concentrations of genotypes assigned to the same group indicates a high level of similarity among those genotypes (Silveira et al. 2021, Steiner et al. 2022). The concurrent use of different grouping methods should be considered standard practice to enhance genotype discrimination (Sant'Anna et al. 2021, Silveira et al. 2022b). By employing different multivariate methods, the accuracy of the results is improved (Azevedo et al. 2015), which is advantageous within a breeding program.

The identification of the best parents for future crosses is crucial for the success of a breeding program (Marostega et al. 2021). For selection of new genotypes, Best Linear Unbiased Prediction (BLUP) is a method known for shrinking estimators towards the mean, reducing their variance while increasing their predictive accuracy (Robinson 1991). The genotypes values obtained using the  $u + g + gem$  criterion are higher due to the incorporation of the average interaction (Capistriano et al. 2021), which is why we chose to use this criterion. Resende & Barbosa (2006) described the genotypic value, which combines the genotypic effect and the general mean, as the best parameter to explain the superiority of a particular cross. In our study, the top twenty most productive genotypes were selected for the eight forage traits under investigation (Table IV). To enhance forage production, we recommend selecting hybrids D3, C17, B26, D16, and B29 for increase LDM; A24, A22, B39, B15, and A37 for improvements in LSR; D3, D16, C17, C2, and B17 for enhanced forage yield (TDM). Hybrids D23, D3, B17, F15 and ecotype Bagual offer opportunities for increased TPD, while hybrids D17, C24, C22, C15, and C17 could contribute to an improved PH. These genotypes will be prioritized for future stages of the breeding program, as they rank among the top ten for the most important forage traits (Table V). Among these superior hybrids, the D3 hybrid shows the most promise as it performed well across multiple key forage traits.

The presence of genetic variability in forage production indicates a high potential for genetic improvement of important forage traits by selecting from ranked hybrids in future crosses. The average genotype heritability was found to be higher for the PH character. Considering this and the associated genetic correlations, it is suggested that indirect selection via PH could lead to increased forage yield. Multivariate analysis methods have demonstrated their effectiveness in identifying superior genotypes, and based on the results obtained, it is recommended to use two or more multivariate techniques in studies of genetic diversity and/or for the selection of superior genotypes. The use of REML/BLUP is a powerful tool in perennial

forage plant improvement programs, as it allows for the estimation of genetic parameters and the identification of superior genotypes through predicted genetic values. Based on the BLUP values, the hybrids D3, D16, C17, C2 and B17 were identified as superior for forage production, and they could be incorporated into breeding programs for future crosses aimed at direct selection for this trait.

#### **AUTHOR CONTRIBUTIONS**

SILVEIRA DC, data analysis and interpretation, and manuscript writing; WEILER RL and DALL'AGNOL M, conceived the idea, supervision and designed the study. BRUNES AP and SIMIONI C, writing-review and editing; MILLS A, translated the manuscript and carried out text final revision; WEILER RL, LONGHI J, CORRÊA MVS, NAUDERER N, VALENTINI A and SANTOS WM, performed the experiment and data collection. All authors discussed the results, conceived, and approved the final manuscript.

#### **3.5. REFERENCES**

- ABU-ELLAIL FF, GHAREEB ZE & GRAD WE. 2018. Sugarcane family and individual clone selection based on best linear unbiased predictors (BLUPS) analysis at single stool stage. *J Sugarcane Res* 8(2): 155-168.
- ALBUQUERQUE JRT, LINS HA, SANTOS MG, FREITAS MAM, OLIVEIRA FS, SOUZA ARE, SILVEIRA LM, NUNES GHS, BARROS JÚNIOR AP & VIEIRA PFM. 2022. Adaptability and stability of soybean (*Glycine max* L.) genotypes in semiarid conditions. *Euphytica* 218(5):1-12.
- ALMEIDA GQD, SILVA JDO, RESENDE MDVD, MENEGUCI JLP & MATOS GR. 2019. Selection index via REML/BLUP for identifying superior banana genotypes in the central region of Goiás state, Brazil. *Rev Ceres* 66: 26-33.

AMINI F, MAJIDI MM & MIRLOHI A. 2013. Genetic and genotype x environment interaction analysis for agronomical and some morphological traits in half Sib families of tall fescue. Crop Sci 53(2): 411-421.

ASFAW A, ADERONMU DS, DARKWA K, DE KOEYER D, AGRE P, ABE A, OLASANMI B, ADEBOLA P & ASIEDU R. 2021. Genetic parameters, prediction, and selection in a white Guinea yam early generation breeding population using pedigree information. Crop Sci 61(2): 1038-1051.

AZEVEDO AM, ANDRADE JÚNIOR VC, FIGUEIREDO JA, PEDROSA CE, VIANA DJS, LEMOS VT & NEIVA I.P. 2015. Divergência genética e importância de caracteres em genótipos de batata-doce visando a produção de silagem. Rev Bras Cienc Agrar 10(3): 479-484.

BLOUNT AR & ACUÑA CA. 2009. Bahiagrass. In: SINGH RJ (Ed). Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement Series: Forage Crops. Boca Raton: CRC Press, p. 81–101.

BONILLA JLS, LOPES UV, COLMENERO AZ, VALENCIA BBM, ARRAZATE CHA, WONG JAC & GRAMACHO K. 2022. Path analyses define criteria that allow to reduce costs in a breeding population of cacao (*Theobroma cacao* L.). Tree Genet Genomes 18(3): 1-13.

BOUTSIKA A, SARROU E, COOK CM, MELLIDOU I, AVRAMIDOU E, ANGELI A, MARTENS S, RALLI P, LETSIOU S, SELINI A, GRIGORIADIS I, TOURVAS N, KADOGLIDOU K, KALIVAS A, MALOUPA E, XANTHOPOULOU A & GANOPPOULOS I. 2021. Evaluation of parsley (*Petroselinum crispum*) germplasm diversity from the Greek Gene Bank using morphological, molecular and metabolic markers. Ind Crops Prod 170: 113767.

BURTON GW. Artificial fog facilitates *Paspalum* emasculation. 1948. *J Am Soc Agron* 40:281–282.

BUSH D, MARCAR N, ARNOLD R & CRAWFORD D. 2013. Assessing genetic variation within *Eucalyptus camaldulensis* for survival and growth on two spatially variable saline sites in southern Australia. *For Ecol Manag* 306: 68-78

CAPISTRANO MDC, ANDRADE NETO RDC, SANTOS VBD, LESSA LS, RESENDE MDVD, MESQUITA AGG & GURGEL FDL. 2021. Use of the REML/BLUP methodology for the selection of sweet orange genotypes. *Pesq Agropec Bras* 56: e02032.

CHEN KH, MARCÓN F, DURINGER J, BLOUNT A, MACKOWIAK C & LIAO HL. 2022. Leaf mycobiome and mycotoxin profile of warm-season grasses structured by plant species, geography, and apparent black-stroma fungal structure. *Appl Environ Microbiol* 88(21): e00942-22.

CRUZ CD. 2016. Genes Software-extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. *Acta Sci Agron* 38: 547-552.

DEMPSTER AP, LAIRD NM & RUBIN DB. 1977. Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *J R Stat Soc Series B Stat Methodol* 39(1): 1-22.

DENWAR NN, AWUKU FJ, DIERS B, ADDAE-FRIMPOMAAH F, CHIGEZA G, OTENG-FRIMPONG R, PUOZAA DK & BARNOR MT. 2019. Genetic diversity, population structure

and key phenotypic traits driving variation within soyabean (*Glycine max*) collection in Ghana. Plant Breed 138(5): 577-587.

FACHINETTO J, DALL'AGNOL M, SCHNEIDER-CANNY R, JANKE-PORTO A & DE SOUZA MG. 2021. Genetic similarity among accessions of *Paspalum notatum* Flügge (Poaceae): A potential to parental selection. Braz Arch Biol Technol 64: e21190007.

FALCONER DS & MACKAY TFC. 1996. Introduction to Quantitative Genetics. 4ed., Harlow: Addison Wesley Longman.

FAVILLE MJ, GANESH S, CAO M, JAHLFER MZZ, BILTON TP, EASTON HS, RYAN DL, TRETHEWEY JAK, ROLSTON MP, GRIFFITHS AG, MORAGA R, FLAY C, SCHMIDT J, TAN R & BARRETT BA. 2018. Predictive ability of genomic selection models in a multi-population perennial ryegrass training set using genotyping-by-sequencing. Theor Appl Genet 131(3): 703-720.

FOGAÇA LA, OLIVEIRA RA, CUQUEL FL, VENDRAME WA & TOMBOLATO AFC. 2012. Heritability and genetic correlation in daylily selection. Euphytica 184(3): 301-310

GASPARETTO BF, RADUNZ LL, LOPES RR, FRANKE LB & MARTINELLI JA. 2021. Fungi associated with *Paspalum guenoiarum* seeds: their impact on physiology and control. Cienc Rural 51(9): e20200497

HAMIDOU M, SOULEY AKM, KAPRAN I, SOULEYMANE O, DANQUAH EY, OFORI K, GRACEN V & BA MN. 2018. Genetic variability and its implications on early generation

sorghum lines selection for yield, yield contributing traits, and resistance to sorghum midge. Int J Agron 2018: 1-10.

JOLLIFFE IT. 1972. Discarding variables in a principal component analysis. I: Artificial data. J R Stat Soc C: Appl 21(2): 160-173.

JOLLIFFE IT. 1973. Discarding variables in a principal component analysis. II: Real data. J R Stat Soc C: Appl 22 (1): 21-31.

LEITE WDS, UNÊDA-TREVISOLI SH, SILVA FMD, SILVA AJD & MAURO AOD. 2018. Identification of superior genotypes and soybean traits by multivariate analysis and selection index. Rev Cienc Agron 49: 491-500.

MACHADO JM, DALL'AGNOL M, MOTTA EAM, PEREIRA EA, BARBOSA MR, NEME JC & KRYCKI KC 2019. Productive potential of superior genotypes of *Paspalum notatum* Flügge in response to nitrogen fertilization. Rev Bras Saude Pro Ani 20: e03102019.

MACHADO JM, MOTTA EAM, BARBOSA, MR, WEILER RL, SIMIONI C, SILVEIRA DC, MILLS A, PEREIRA EA & DALL'AGNOL M. 2021. Multivariate analysis reveals genetic diversity in *Paspalum notatum* Flügge. Rev Bras Zootec 50: e20200252.

MAJIDI MM, MIRLOHI A & AMINI F. 2009. Genetic variation, heritability and correlations of agro-morphological traits in tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). Euphytica 167(3): 323-331.

MARCÓN F, BRUGNOLI EA, NUNES JAR, GUTIERREZ VA, MARTÍNEZ EJ & ACUÑA CA. 2021. Evaluating general combining ability for agro-morphological traits in tetraploid bahiagrass. *Euphytica* 217(12): 1-11.

MAROSTEGA TN, PREISIGKE SC, CHIMELLO AM, SILVA GC, GILIO TAS, ARAÚJO KL, BARELLI MAA & NEVES LG. 2021. Different strategies for estimating genetic parameters for collar rot resistance characteristics in *Passiflora* spp. *Chil J Agric Res* 81(3): 281-290.

MORENO JA. 1961. Clima do Rio grande do Sul. *Bol Geog Rio Grande do Sul* 11: 49-83.

MOTTA EAM, DALL'AGNOL M, PEREIRA EA, SIMIONI C & MACHADO JM. 2017. Valor forrageiro de híbridos interespecíficos superiores de *Paspalum*. *Rev Cienc Agron (UFC Online)* 48: 191-198.

MOTTA EAM, GRAMINHO LA, DALL'AGNOL M, PÖTTER L, NABINGER C, SOUZA CHL, KRYCKI KC, DOS SANTOS TN, WEILER RL & DE ÁVILA MR. 2021. Response of Bahiagrass hybrids to nitrogen fertilization or mixture with legumes. *Rev Bras Zootec* 50: e20210015.

NOVO PE, VALLS JFM, GALDEANO F, HONFI AI, ESPINOZA F & QUARIN CL. 2016. Interspecific hybrids between *Paspalum plicatulum* and *P. oteroi*: a key tool for forage breeding. *Sci Agr* 73: 356-362.

ORTIZ JPA, QUARIN, C, PESSINO SC, ACUÑA C, MARTÍNEZ EJ, ESPINOZA F, HOJSGAARD DH, SARTOR ME, CÁCERES ME & PUPILLI P. 2013. Harnessing apomitic reproduction in grasses: what we have learned from *Paspalum*. Ann Bot 112(5): 767-787.

PAW M, MUNDA S, BORAH A, PANDEY SK & LAL M. 2020. Estimation of variability, genetic divergence, correlation studies of *Curcuma caesia* Roxb. *J Appl Res Med Aromat Plants* 17: 100251.

PIEPHO HP, MOHRING J, MELCHINGER AE & BUCHSE A. 2008. BLUP for phenotypic selection in plant breeding and variety testing. *Euphytica* 161(1): 209-228.

QUARIN CL, ESPINOZA F, MARTÍNEZ EJ, PESSINO CS & BOVO OA. 2001. A rise of ploidy level induces the expression of apomixis in *Paspalum notatum*. *Sex Plant Reprod* 13: 243–249.

QUARIN CL, URBANI MH, BLOUNT AR, MARTÍNEZ EJ, HACK CM, BURTON GW & QUESENBERRY KH. 2003. Registration of Q4188 and Q4205, sexual tetraploid germplasm lines of bahiagrass. *Crop Sci* 43: 745–746.

R CORE TEAM. 2019. R: A language and environment for statistical computing. Viena: R Foundation for Statistical Computing. URL <https://www.R-project.org/>.

RAO CR. 1952. Advanced statistical methods in biometric research. New York: John Wiley & Sons.

RESENDE MDV. 2007. Matemática e Estatística na Análise de Experimentos e no Melhoramento Genético. Colombo: Embrapa Florestas, Colombo, Brazil, p. 561.

RESENDE MDV. 2015. Genética quantitativa e de populações. Viçosa: Suprema, 463p.

RESENDE MDV. 2016. Software Selegen-REML/BLUP: a useful tool for plant breeding. *Crop Breed Appl Biotechnol (Online)* 16: 330-339.

RESENDE MDV & BARBOSA MHP. 2006. Selection via simulated BLUP based on family genotypic effects in sugarcane. *Pesq Agropec Bras* 41: 421-429.

RESENDE RMS, CASLER MD & RESENDE MDV. 2013. Selection methods in forage breeding: a quantitative appraisal. *Crop Sci* 53(5): 1925-1936, 2013.

RIVA LC, MORAES MAD, CAMBUIM J, ZULIAN DF, SATO LM, CALDEIRA FA, PANOSO AR & MORAES MLT. 2020. Genetic control of wood quality of *Myracrodruon urundeuva* populations under anthropogenic disturbance. *Crop Breed Appl Biotechnol (On line)* 20(4): e320920411.

ROBINSON GK. 1991. That BLUP is a good thing: the estimation of random effects. *Stat Sci* 15-32.

SAEIDNIA F, MAJIDI MM, SPANANI S, ABDOLLAHI-BAKHTIARI M, KARAMI Z & HUGHES N. 2020. Genotypic-specific responses caused by prolonged drought stress in smooth

bromegrass (*Bromus inermis*): Interactions with mating systems. Plant Breed 139(5): 1029-1041.

SANT'ANNA IC, CRUZ CD, GOUVÊA LRL, SCALOPPI-JUNIOR EJ, FREITAS RS & GONÇALVES PS. 2021. Genetic diversity analyses of rubber tree genotypes based on UPOV descriptors. Ind Crops Prod 165: 113416.

SANTOS W, AGUIAR AV, SOUZA DCL, DINI DGT, SOUZA FB, DALASTRA C, MACHADO JAR, SOUSA VA, MORAES MLT, FREITAS MLM & SEBBENN AM. 2018a. Genetic variation and efective population size in *Dipteryx alata* progenies in pederneiras, São Paulo, Brazil. Rev Árvore 42(3): e420310.

SANTOS HG, JACOMINE PKT, ANJOS LHC, OLIVEIRA VÁ, LUMBRERAS JF, COELHO MR, ALMEIDA JA, ARAÚJO-FILHO JC, OLIVEIRA JB & CUNHA T. 2018b. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 5ed., Brasília: Embrapa, p. 356.

SANTOS AP, NUNES, ACP, GARUZZO MDSPB, CORRÊA RX & MARQUES, FG. 2022. Genetic variability and predicted gain in progeny tests of native Atlantic Forest timber species: *Cariniana legalis*, *Cordia trichotoma*, and *Zeyheria tuberculosa*. Ann For Res 65(1): 85-96.

SARTOR ME, QUARIN CL, URBANI MH & ESPINOZA F. 2011. Ploidy levels and reproductive behaviour in natural populations of five *Paspalum* species. Plant Syst Evol 293(1): 31-41.

SILVEIRA ML, ROUQUETTE-JUNIOR FM, SMITH GR, SILVA HM & DUBEUX JUNIOR JC. 2014. Soil fertility principles for warm-season perennial forages and sustainable pasture production. *Forage Graz* 12 (1): 1-9.

SILVEIRA DC, PELISSONI M, BUZATTO CR, SCHEFFER-BASSO SM, EBONE L A, MACHADO J.M & LÂNGARO NC. 2021. Anatomical traits and structural components of peduncle associated with lodging in *Avena sativa* L. *Agron Res* 1: 250-264.

SILVEIRA DC, BASSO SMS, EBONE LA, CAVERZAN A, MACHADO JM, SCHAEFFER AH, FOLCHINI JÁ & LÂNGARO NC. 2022a. Morphological traits of stem to indirect selection of resistance to lodging in *Avena sativa* L. *J Crop Sci Biotech* 25(1): 39-50.

SILVEIRA DC, MACHADO JM, MOTTA EAM, BARBOSA MR, SIMIONI C, WEILER RL, MILLS A, SAMPAIO R, BRUNES AP & DALL'AGNOL M. 2022b. Genetic parameters, prediction of gains and intraspecific hybrid selection of *Paspalum notatum* Flügge for forage using REML/BLUP. *Agronomy* 12(7): 1654.

SINGH D. 1981. The relative importance of characters affecting genetic divergence. *Indian J Genet Plant Breed* 41: 237–245.

SOIL CHEMISTRY AND FERTILITY COMMISSION (CQFS). 2004. 10ed., Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 400 p.

STEINER M, DALL'AGNOL M, NABINGER C, SCHAFER-BASSO S, WEILER RL, SIMIONI C, SCHIFINO-WITTMANN MT & MOTTA EAM. 2017. Forage potential of native

ecotypes of *Paspalum notatum* and *Paspalum guenoiarum*. An Acad Bras Cienc (Impresso), 89(3): 1753-1760.

STEINER MG, WEILER RL, BRUNES AP, MILLS A, DALL'AGNOL M, NABINGER C, MOTTA EAM, SILVEIRA DC, SAMPAIO R & TESSIS G. 2022. Characterization and genetic diversity in *Paspalum notatum* Flügge accessions: Morphological and geographical distance. Rev Bras Zootec 51: e20220015.

WEI T, SIMKO V, LEVY M, XIE Y, JIN & ZEMLA J. 2017. package “corrplot”. Statistican 56 (316): e2

THONDAIMAN V & RAJAMANI K. 2014. Correlation and path coefficient analysis of yield components in cocoa (*Theobroma cacao* L.). J Plant Crops 42(3): 358-363.

VALADARES RN, MELO RA, SILVA JAS, ARAÚJO ALR, SILVA FS, CARVALHO-FILHO, JLS & MENEZES D. 2017. Estimativas de parâmetros genéticos e correlações em acessos de melão do grupo momordica. Hortic Bras 35: 557-563.

WANG X, YAN M, WANG X, WU Z, ZHOU J, WANG C, CHEN R, QIN X, YANG H, WEI H & GU W. 2022. The phenotypic diversity of *Schisandra sphenanthera* fruit and SVR model for phenotype forecasting. Ind Crops Prod 186: 115162.

WAWU FUK, SUDITA IDN & REJEKI IGADS. 2021. Physical quality of some types of grass on mixed planting with *Arachis pintoi* and organic fertilizing. J Phys Conf Ser 1869: e-012049.

WEILER RL, DALLAGNOL M, SIMIONI C, KRYCKI CK, DAHMER N & GUERRA D. 2017. Determination of the mode of reproduction of bahiagrass hybrids using cytoembryological analyses and molecular markers. R Bras Zootec 46 (3): 185-191.

WEILER RL, DALLAGNOL M, SIMIONI C, KRYCKI CK, PEREIRA EA, MACHADO JMA & MOTTA EAM. 2018. Intraspecific tetraploid hybrids of *Paspalum notatum*: agronomic characterization of segregating progeny. Sci Agr (USP. Impresso) 75(1): 36-42.

**Table 1.** Comparison of average monthly minimum (min) and maximum (max) temperature (°C) and rainfall (mm) during the experimental period (December 2010- March 2012) with the 40-yr average (1970-2009).

| Month | Temperature (°C, min-max) |           |           |            | Rainfall (mm) |      |      |            |
|-------|---------------------------|-----------|-----------|------------|---------------|------|------|------------|
|       | 2010                      | 2011      | 2012      | 40-yr avg. | 2010          | 2011 | 2012 | 40-yr avg. |
| Jan   | -                         | 20.7-30.8 | 17.6-30.4 | 19.3-30.2  | -             | 130  | 43   | 106        |
| Feb   | -                         | 19.7-29.0 | 19.5-31.6 | 19.0-29.4  | -             | 259  | 137  | 106        |
| Mar   | -                         | 17.2-27.4 | 14.8-28.9 | 18.0-28.2  | -             | 101  | 112  | 102        |
| Apr   | -                         | 13.3-25.3 | -         | 14.5-25.2  | -             | 172  | -    | 110        |
| May   | -                         | 9.4-20.9  | -         | 11.2-21.8  | -             | 30   | -    | 108        |
| Jun   | -                         | 7.0-18.0  | -         | 8.7-18.6   | -             | 116  | -    | 154        |
| Jul   | -                         | 6.8-17.0  | -         | 8.5-18.7   | -             | 246  | -    | 144        |
| Aug   | -                         | 8.1-17.3  | -         | 9.7-20.2   | -             | 221  | -    | 164        |
| Sep   | -                         | 9.1-22.1  | -         | 11.2-21.4  | -             | 85   | -    | 142        |
| Oct   | -                         | 12.9-24.5 | -         | 13.8-24    | -             | 133  | -    | 129        |
| Nov   | -                         | 13.4-27.5 | -         | 15.4-26.6  | -             | 40   | -    | 109        |
| Dec   | 16.5-28.8                 | 15.8-28.6 | -         | 17.5-29.0  | -             | 56   | -    | 111        |

**Table 2.** Female and male tetraploid parents and hybrids of *Paspalum notatum* evaluated.

| Female parent | Male parent    | Family | Nºhybrids <sup>1</sup> | Hybrids ID  |
|---------------|----------------|--------|------------------------|---|
| Q4188         | André da Rocha | A      | 29                     | A10; A11; A12; A13; A14; A15; A16; A17; A18; A2; A20; A21; A22; A23; A24; A25; A26; A27; A28; A29; A31; A32; A33; A35; A36; A37; A38; A7; A8  |
| Q4188         | Bagual         | B      | 44                     | B1; B10; B11; B12; B13; B14; B15; B16; B17; B18; B19; B2; B20; B21; B22; B23; B25; B26; B27; B28; B29; B3; B30; B31; B32; B33; B34; B35; B36; B37; B38; B39; B4; B40; B41; B42; B43; B44; B5; B52; B6; B7; B8; B9 |

|       |        |       |      |   |
|-------|--------|-------|------|---|
|       |        | André |      | C1; C10; C11; C12; C13; C14; C15; C16;                |
| Q4205 | da     |       | C 35 | C17; C18; C19; C2; C20; C21; C22; C23; C24; C25;      |
|       | Rocha  |       |      | C26; C27; C28; C29; C3; C30; C31; C32; C34; C35;      |
|       |        |       |      | C36; C4; C5; C6; C7; C8; C9                           |
|       |        |       |      | D1; D10; D11; D12; D13; D14; D16; D17;                |
| Q4205 | Bagual |       | D 26 | D18; D19  |
|       |        |       |      | D2; D20; D21; D22; D23; D24; D25; D26;                |
|       |        |       |      | D27; D3; D4; D5; D6; D7; D8; D9                       |
|       |        | André |      | E1; E10; E11; E12; E13; E14; E15; E16; E17;           |
| C44X  | da     |       | E 23 | E18; E19; E2; E20; E21; E22; E24; E3; E4; E5; E6;     |
|       | Rocha  |       |      | E7; E8; E9  |
|       |        |       |      | F1; F10; F11; F12; F13; F14; F15; F16; F17;           |
| C44X  | Bagual |       | F 32 | F18; F2; F20; F21; F22; F23; F24; F25; F26; F27; F28; |
|       |        |       |      | F29; F3; F30; F31; F32; F33; F4; F5; F6; F7; F8; F9   |

Note:<sup>1</sup>189 hybrids in total.

Table 3. Analysis of deviance of forages traits in 195 *Paspalum notatum* intraspecific hybrids.

| Effect              | LDM<br>(g plant <sup>-1</sup> ) | SDM<br>(g plant <sup>-1</sup> )       | LSR<br>(g plant <sup>-1</sup> ) | IDM            |
|---------------------|---------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|----------------|
| Complete model      | 13451.06                        | 10190.82                              | 11777.18                        | 7452.48        |
| Genotypes           | 13470.69                        | 10221.85                              | 11784.44                        | 7468.91        |
| Environmental       | 13484.72                        | 10243.25                              | 11779.84                        | 7479.73        |
| Interaction (GxE)   | 13766.25                        | 10435.22                              | 11777.29                        | 7619.72        |
| LRT <sub>g</sub>    | 19.63*                          | 31.03*                                | 7.26*                           | 16.43*         |
| LRT <sub>m</sub>    | 33.66*                          | 52.43*                                | 2.66 <sup>ns</sup>              | 27.25*         |
| LRT <sub>GxE</sub>  | 315.19*                         | 244.4*                                | 0.11 <sup>ns</sup>              | 167.24*        |
| Gran mean           | 62.17                           | 18.94                                 | 10.52                           | 7.70           |
| CV <sub>e</sub> (%) | 50.98                           | 68.40                                 | 295.19                          | 87.06          |
| CV <sub>g</sub> (%) | 43.57                           | 67.20                                 | 78.80                           | 61.58          |
| CV <sub>r</sub>     | 0.85                            | 0.98                                  | 0.27                            | 0.71           |
| Effect              | TDM<br>(g plant <sup>-1</sup> ) | TPD<br>(tillers plant <sup>-1</sup> ) | PH<br>(cm)                      | GH<br>(1 to 5) |
| Complete model      | 14577.59                        | 15059.57                              | 5632.99                         | -42.2          |

|                     |          |          |         |                    |
|---------------------|----------|----------|---------|--------------------|
| Genotypes           | 14602.93 | 15068.41 | 5786.11 | -3.93              |
| Environmental       | 14627.24 | 15066.73 | 5716.46 | -36.06             |
| Interaction (GxE)   | 14884.95 | 15178.32 | 5686.07 | 53.6               |
| LRT <sub>g</sub>    | 25.34*   | 8.84*    | 153.12* | 38.27*             |
| LRT <sub>m</sub>    | 49.65*   | 7.16*    | 83.47*  | 6.14 <sup>ns</sup> |
| LRT <sub>GxE</sub>  | 307.36*  | 118.75*  | 53.08*  | 95.8*              |
| Gran mean           | 88.03    | 85.29    | 15.03   | 2.60               |
| CV <sub>e</sub> (%) | 50.38    | 72.32    | 16.86   | 18.07              |
| CV <sub>g</sub> (%) | 47.43    | 33.99    | 22.10   | 13.22              |
| CV <sub>r</sub>     | 0.94     | 0.47     | 1.31    | 0.73               |

\*Significativo a 1% de probabilidade pelo teste Qui-quadrado. LRT (X<sup>2</sup>): teste de razão de verossimilhança. CV<sub>e</sub>: coeficiente de variação experimental; CV<sub>g</sub>: coeficiente de variação genético; CV<sub>r</sub>: coeficiente de variação relativo. LDM: Leaves dry mass; SDM: stem dry mass; LSR: leaf:steam ratio; IDM: inflorescence dry mass; TDM: total dry mass; TPD: tiller population density; PH: plant height; GH: Growth habit.

Table 4. Principle components (PC), estimates of variances (eigenvalue  $\lambda_j$ ), percentage of variance explained by components (importance %) and accumulated variance (% accumulated) of accessions of *Paspalum notatum*.

| PC  | $\lambda_j$ | Importance (%) | % accumulated | Highlights | Recomendation* |
|-----|-------------|----------------|---------------|------------|----------------|
| PC1 | 4.85        | 60.67          | 60.67         | TDM        |                |
| PC2 | 1.37        | 17.15          | 77.82         | GH         |                |
| PC3 | 0.94        | 11.69          | 89.51         | LSR        |                |
| PC4 | 0.51        | 6.41           | 95.92         | IDM        | Discard        |
| PC5 | 0.17        | 2.10           | 98.03         | PH         | Discard        |
| PC6 | 0.12        | 1.45           | 99.47         | TDM        | Discard        |
| PC7 | 0.04        | 0.52           | 99.99         | SDM        | Discard        |
| PC8 | 0.00        | 0.00           | 100.00        | TDM        | Discard        |

\*According to the criterion of Jolliffe (1972). LDM: Leaves dry mass; SDM: stem dry mass; LSR: leaf:stem ratio; IDM: inflorescence dry mass; TDM: total dry mass; TPD: tiller population density; PH: plant height; GH: Growth habit.

Table 5. Group composition based on Mahalanobis genetic ( $D^2$ ) distance matrix using original Tocher optimization methods in *Paspalum notatum*.

| Groups | Hibrids   |
|--------|---|
|        | E11; F8; E16; F14; F11; E4; B9; E1; E24; E12; B36; C44X; E6; F13; E19; E5; C30; E17; E15; B3; B41; A23; B21; F10; Pensacola; F23; F7; E14; E10; F3; E3; F26; B23; E22; A35; F9; F31; F33; F20; E7; E8; E13; B5; E20; D21; D27; B44; B34; F16; A26; A27; A38; A17; B1; C21; F1; A12; C36; A2; F6; A28; E18; A7; B31; A36; D14; B25; B18; E2; B42; A15;   |
| I      | A32; B12; B20; E9; C29; A10; C7; D26; C13; A14; C10; C16; A8; D13; F5; C31; F27; Q4188; B10; F32; B33; B7; F18; B8; B27; D12; B30; D4; B40; C3; C34; B52; C26; D10; B38; F17; D19; B16; E21; F21; A33; C27; B32; B22; D9; D2; C20; A29; B14; D24; D8; C1; D5; F22; A18; D18; C19; C4; F25; A25; F2; B4; C25; B19; C14; C11; Q4205; C5; A16; C28; B2; D11; A11; B13; A21; D22; A31; C12; B11; D20; C35; A37; F30; D6; D7; A20; F28 |
| II     | Bagual; F15; F24; F29; B43; AR; F12; B35; F4; A13; C6; C32; B37; B17; C9; C2; C18; D16; C23; C8; C24; D25; C15; C17; D17; C22; B26; D1; B28; B29  |
| III    | B15; B39; A22; A24; B6  |
| IV     | D23   |
| V      | D3  |

Table 6. Estimates predicted genetic gain (BLUP) for forage traits in *P. notatum* hybrids based on average performance of years of experiment.

| Order      | Hybrids | g      | u+g    | Gain   | $\bar{X}_{\text{new}}$ | u+g+gem | ISG    | Hybrids        | g      | u+g    | Gain   | $\bar{X}_{\text{new}}$ | u+g+gem | ISG    |
|------------|---------|--------|--------|--------|------------------------|---------|--------|----------------|--------|--------|--------|------------------------|---------|--------|
| 1          | D3      | 105.34 | 193.37 | 105.34 | 193.37                 | 271.82  | 119.67 | D23            | 102.22 | 187.50 | 102.22 | 187.50                 | 312.17  | 119.85 |
| 2          | D16     | 70.10  | 158.12 | 87.72  | 175.75                 | 210.33  | 79.63  | D3             | 41.47  | 126.76 | 71.84  | 157.13                 | 177.33  | 48.62  |
| 3          | C17     | 69.57  | 157.60 | 81.67  | 169.70                 | 209.40  | 79.03  | B17            | 40.40  | 125.69 | 61.36  | 146.65                 | 174.96  | 47.37  |
| 4          | C2      | 67.53  | 155.56 | 78.13  | 166.16                 | 205.84  | 76.71  | Bagual         | 33.10  | 118.38 | 54.30  | 139.58                 | 158.75  | 38.81  |
| 5          | B17     | 65.82  | 153.84 | 75.67  | 163.70                 | 202.86  | 74.77  | F15            | 31.90  | 117.19 | 49.82  | 135.10                 | 156.09  | 37.40  |
| 6          | D17     | 62.56  | 150.59 | 73.49  | 161.51                 | 197.18  | 71.07  | F29            | 31.43  | 116.72 | 46.75  | 132.04                 | 155.05  | 36.85  |
| 7          | B43     | 62.21  | 150.24 | 71.88  | 159.90                 | 196.57  | 70.67  | D16            | 30.62  | 115.90 | 44.45  | 129.73                 | 153.25  | 35.90  |
| 8          | Bagual  | 61.23  | 149.25 | 70.54  | 158.57                 | 194.85  | 69.55  | F24            | 29.59  | 114.88 | 42.59  | 127.88                 | 150.97  | 34.70  |
| 9          | C24     | 60.62  | 148.65 | 69.44  | 157.47                 | 193.80  | 68.87  | B43            | 29.59  | 114.88 | 41.15  | 126.43                 | 150.97  | 34.70  |
| 10         | D25     | 59.44  | 147.47 | 68.44  | 156.47                 | 191.73  | 67.52  | D17            | 28.99  | 114.28 | 39.93  | 125.22                 | 149.64  | 34.00  |
| 11         | C18     | 59.03  | 147.06 | 67.59  | 155.61                 | 191.02  | 67.06  | C18            | 27.11  | 112.40 | 38.77  | 124.05                 | 145.47  | 31.79  |
| 12         | F15     | 57.33  | 145.36 | 66.73  | 154.76                 | 188.06  | 65.13  | D25            | 26.86  | 112.15 | 37.77  | 123.06                 | 144.90  | 31.49  |
| 13         | F29     | 53.95  | 141.98 | 65.75  | 153.78                 | 182.15  | 61.28  | B37            | 26.39  | 111.68 | 36.90  | 122.18                 | 143.86  | 30.94  |
| 14         | B26     | 52.90  | 140.93 | 64.83  | 152.86                 | 180.33  | 60.10  | C24            | 26.13  | 111.42 | 36.13  | 121.42                 | 143.29  | 30.64  |
| 15         | B37     | 50.23  | 138.26 | 63.86  | 151.89                 | 175.66  | 57.06  | AR             | 26.00  | 111.29 | 35.45  | 120.74                 | 143.01  | 30.49  |
| 16         | F24     | 48.91  | 136.93 | 62.92  | 150.95                 | 173.35  | 55.56  | C6             | 25.79  | 111.08 | 34.85  | 120.14                 | 142.53  | 30.24  |
| 17         | C32     | 47.51  | 135.54 | 62.02  | 150.04                 | 170.93  | 53.98  | C32            | 24.38  | 109.67 | 34.23  | 119.52                 | 139.40  | 28.59  |
| 18         | C9      | 46.78  | 134.81 | 61.17  | 149.20                 | 169.64  | 53.14  | C2             | 24.12  | 109.41 | 33.67  | 118.96                 | 138.83  | 28.29  |
| 19         | C6      | 46.59  | 134.62 | 60.40  | 148.43                 | 169.31  | 52.93  | C17            | 24.08  | 109.37 | 33.17  | 118.45                 | 138.74  | 28.24  |
| 20         | C15     | 45.98  | 134.01 | 59.68  | 147.71                 | 168.25  | 52.24  | B26            | 21.56  | 106.85 | 32.59  | 117.87                 | 133.14  | 25.28  |
| PH<br>(cm) |         |        |        |        |                        |         |        | GH<br>(1 to 5) |        |        |        |                        |         |        |
| Order      | Hybrids | g      | u+g    | Gain   | $\bar{X}_{\text{new}}$ | u+g+gem | ISG    | Hybrids        | g      | u+g    | Gain   | $\bar{X}_{\text{new}}$ | u+g+gem | ISG    |
| 1          | D17     | 8.04   | 23.07  | 8.04   | 23.07                  | 23.80   | 53.50  | C22            | 0.60   | 3.20   | 0.60   | 3.20                   | 3.45    | 22.97  |
| 2          | C24     | 7.88   | 22.91  | 7.96   | 22.99                  | 23.62   | 52.39  | D7             | 0.60   | 3.20   | 0.60   | 3.20                   | 3.45    | 22.97  |
| 3          | C22     | 7.81   | 22.85  | 7.91   | 22.94                  | 23.55   | 51.98  | C19            | 0.52   | 3.12   | 0.57   | 3.17                   | 3.35    | 20.16  |
| 4          | C15     | 7.53   | 22.56  | 7.81   | 22.85                  | 23.24   | 50.08  | C14            | 0.52   | 3.12   | 0.56   | 3.16                   | 3.35    | 20.16  |
| 5          | C17     | 7.29   | 22.33  | 7.71   | 22.74                  | 22.98   | 48.52  | D18            | 0.52   | 3.12   | 0.55   | 3.15                   | 3.35    | 20.16  |
| 6          | D3      | 7.18   | 22.21  | 7.62   | 22.65                  | 22.86   | 47.75  | D25            | 0.52   | 3.12   | 0.55   | 3.15                   | 3.35    | 20.16  |
| 7          | D25     | 7.11   | 22.14  | 7.55   | 22.58                  | 22.78   | 47.31  | C34            | 0.45   | 3.05   | 0.53   | 3.14                   | 3.25    | 17.37  |
| 8          | D1      | 7.03   | 22.06  | 7.48   | 22.52                  | 22.69   | 46.75  | D1             | 0.45   | 3.05   | 0.52   | 3.12                   | 3.25    | 17.37  |
| 9          | C5      | 5.56   | 20.59  | 7.27   | 22.30                  | 21.09   | 36.97  | D10            | 0.45   | 3.05   | 0.52   | 3.12                   | 3.25    | 17.37  |
| 10         | D16     | 5.46   | 20.49  | 7.09   | 22.12                  | 20.98   | 36.30  | D17            | 0.45   | 3.05   | 0.51   | 3.11                   | 3.25    | 17.37  |
| 11         | C18     | 5.42   | 20.45  | 6.94   | 21.97                  | 20.94   | 36.07  | D20            | 0.45   | 3.05   | 0.50   | 3.11                   | 3.25    | 17.37  |
| 12         | C35     | 5.27   | 20.31  | 6.80   | 21.83                  | 20.78   | 35.08  | B28            | 0.45   | 3.05   | 0.50   | 3.10                   | 3.25    | 17.37  |
| 13         | D20     | 5.06   | 20.09  | 6.66   | 21.70                  | 20.54   | 33.63  | C5             | 0.45   | 3.05   | 0.50   | 3.10                   | 3.25    | 17.37  |
| 14         | D6      | 4.82   | 19.85  | 6.53   | 21.56                  | 20.29   | 32.08  | D19            | 0.45   | 3.05   | 0.49   | 3.09                   | 3.25    | 17.37  |
| 15         | B28     | 4.69   | 19.72  | 6.41   | 21.44                  | 20.14   | 31.18  | C15            | 0.45   | 3.05   | 0.49   | 3.09                   | 3.25    | 17.37  |
| 16         | B29     | 4.59   | 19.62  | 6.30   | 21.33                  | 20.03   | 30.52  | C8             | 0.45   | 3.05   | 0.49   | 3.09                   | 3.25    | 17.37  |
| 17         | D7      | 4.49   | 19.52  | 6.19   | 21.22                  | 19.92   | 29.85  | C4             | 0.45   | 3.05   | 0.49   | 3.09                   | 3.25    | 17.37  |
| 18         | C8      | 4.42   | 19.45  | 6.09   | 21.12                  | 19.85   | 29.41  | A29            | 0.45   | 3.05   | 0.48   | 3.08                   | 3.25    | 17.37  |
| 19         | C14     | 4.39   | 19.43  | 6.00   | 21.03                  | 19.82   | 29.23  | A25            | 0.38   | 2.98   | 0.48   | 3.08                   | 3.14    | 14.56  |
| 20         | C23     | 4.22   | 19.25  | 5.91   | 20.95                  | 19.63   | 28.09  | B13            | 0.38   | 2.98   | 0.47   | 3.07                   | 3.14    | 14.56  |

g: genotypic effects; u + g: predicted genotypic values, free from any interaction with years; G:

gain;  $\bar{X}_{\text{new}}$ : new average; u + g + gem: average genotypic value in the years studied and

capitalizes on an average interaction with all environments evaluated; ISG (%): individual selection gain in relation to the overall average of the genotypes in percentage.

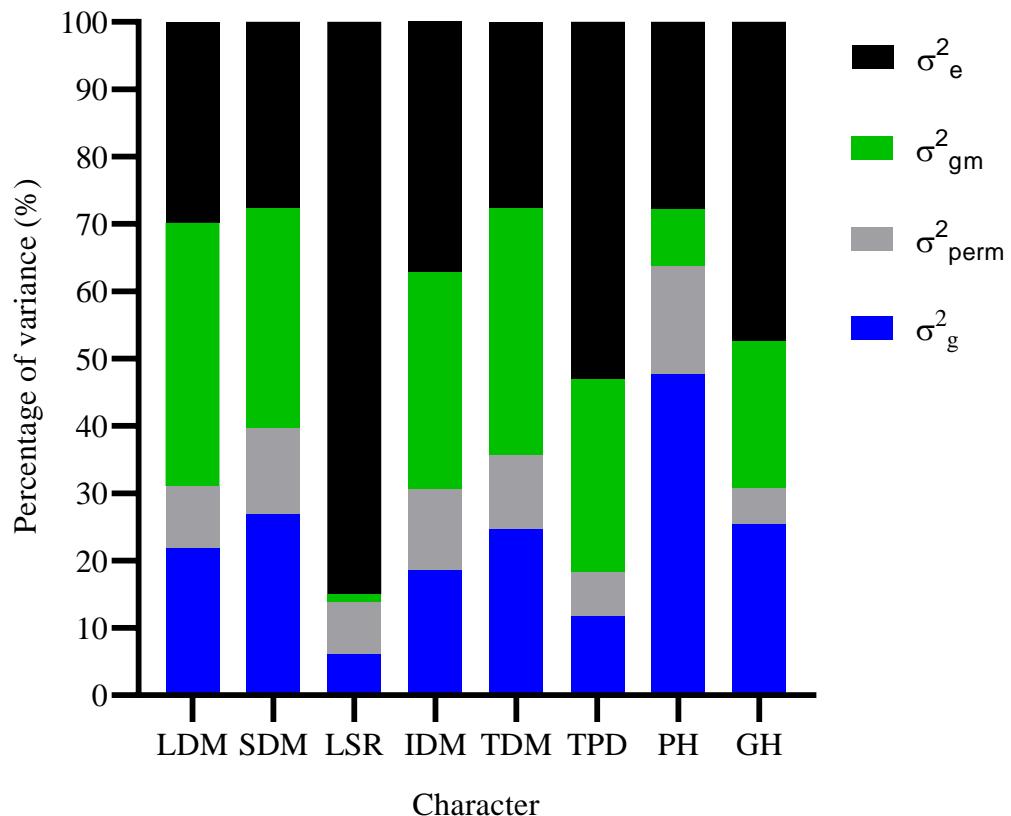


Figure 1. Decomposition of variance components for mixed model of forage characters.  $\sigma_e^2$ : environmental variance;  $\sigma_{gm}^2$ : variance of genotypes x measurements interaction;  $\sigma_{perm}^2$ : permanent ambient variance;  $\sigma_g^2$ : genotypic variance. LDM: Leaves dry mass; SDM: stem dry mass; LSR: leaf: stem ratio; IDM: inflorescence dry mass; TDM: total dry mass; TPD: tiller population density; PH: plant height; GH: Growth habit.

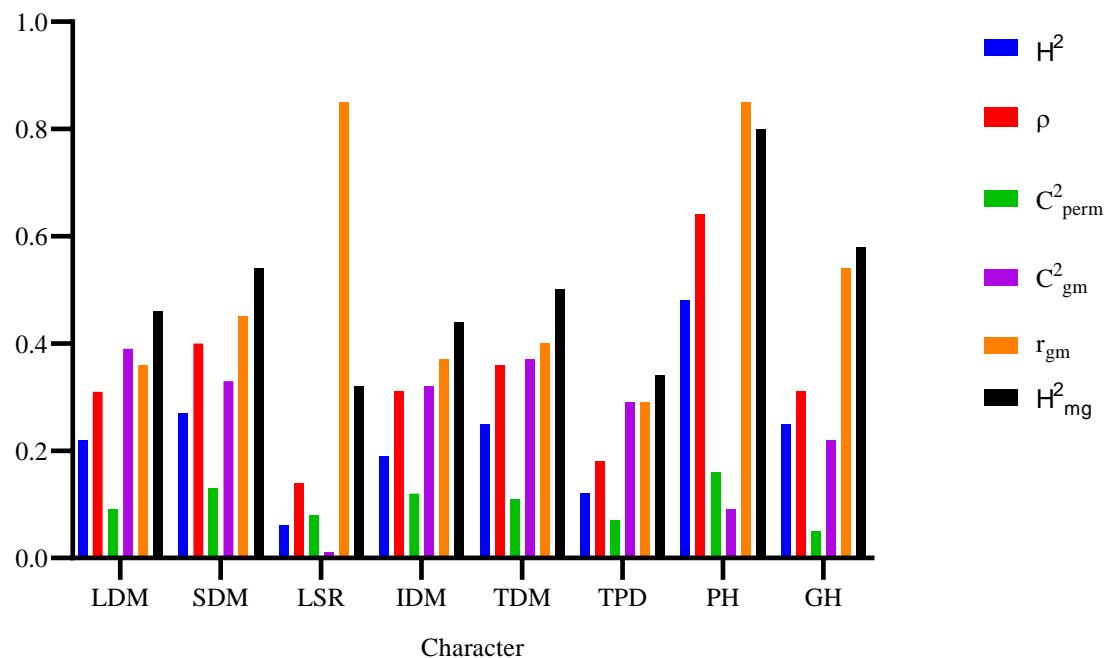


Figure 2. Estimation of variance components and genetic parameters for forage traits in z

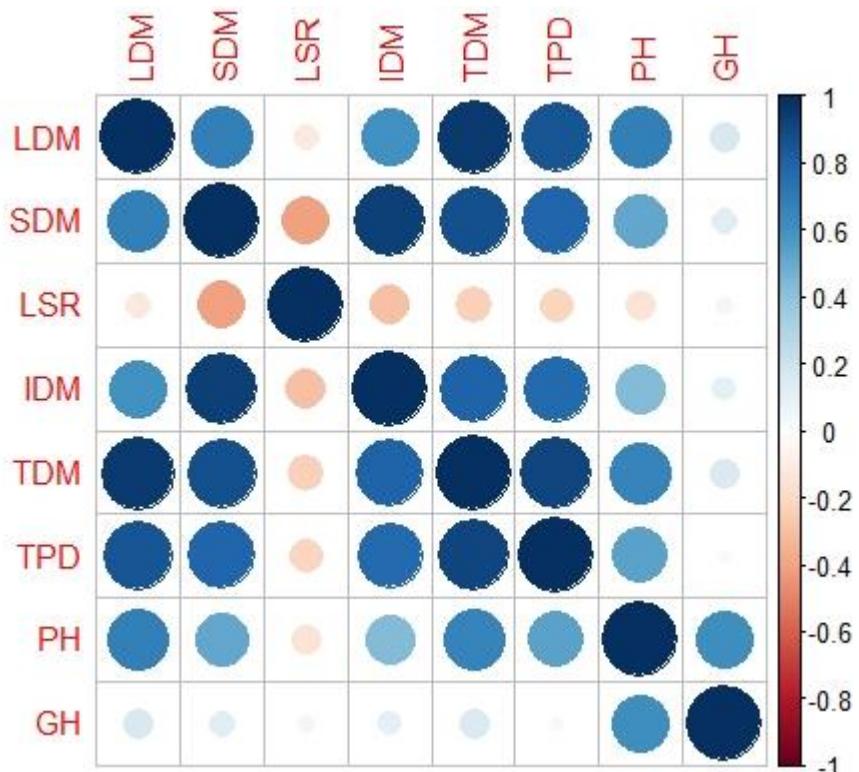


Figure 3. Genotypic correlation between eight forage traits of 195 Paspalum notatum intraspecific hybrids. LDM: Leaves dry mass; SDM: stem dry mass; LSR: leaf: steam

ratio; IDM: inflorescence dry mass; TDM: total dry mass; TPD: tiller population density; PH: plant height; GH: Growth habit.

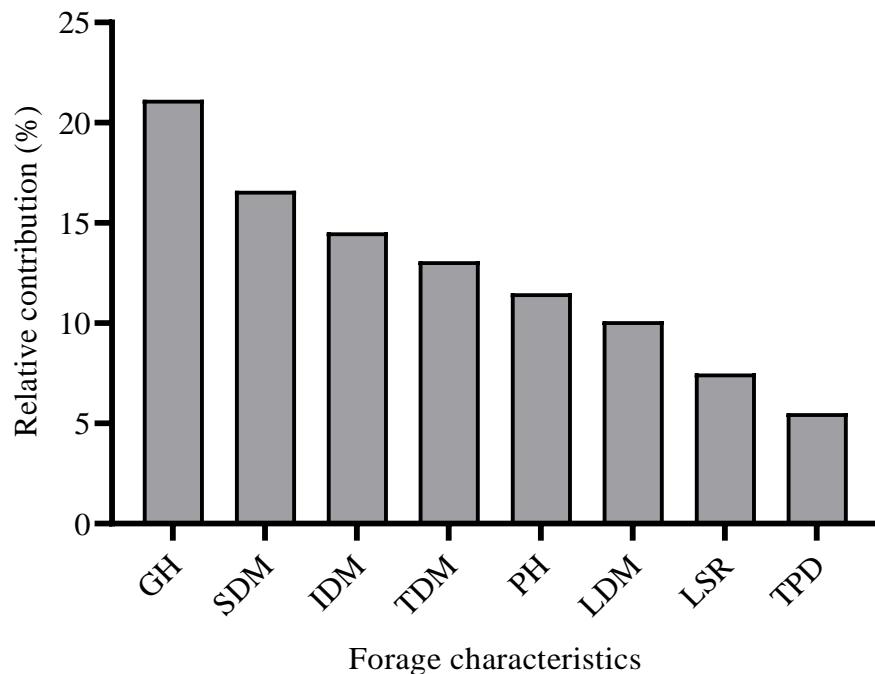


Figure 4. Relative contribution of forage traits to the genetic diversity in 195 *Paspalum notatum* intraspecific hybrids, based on the Mahalanobis ( $D^2$ ) genetic distance. LDM: Leaves dry mass; SDM: stem dry mass; LSR: leaf: steam ratio; IDM: inflorescence dry mass; TDM: total dry mass; TPD: tiller population density; PH: plant height; GH: Growth habit.

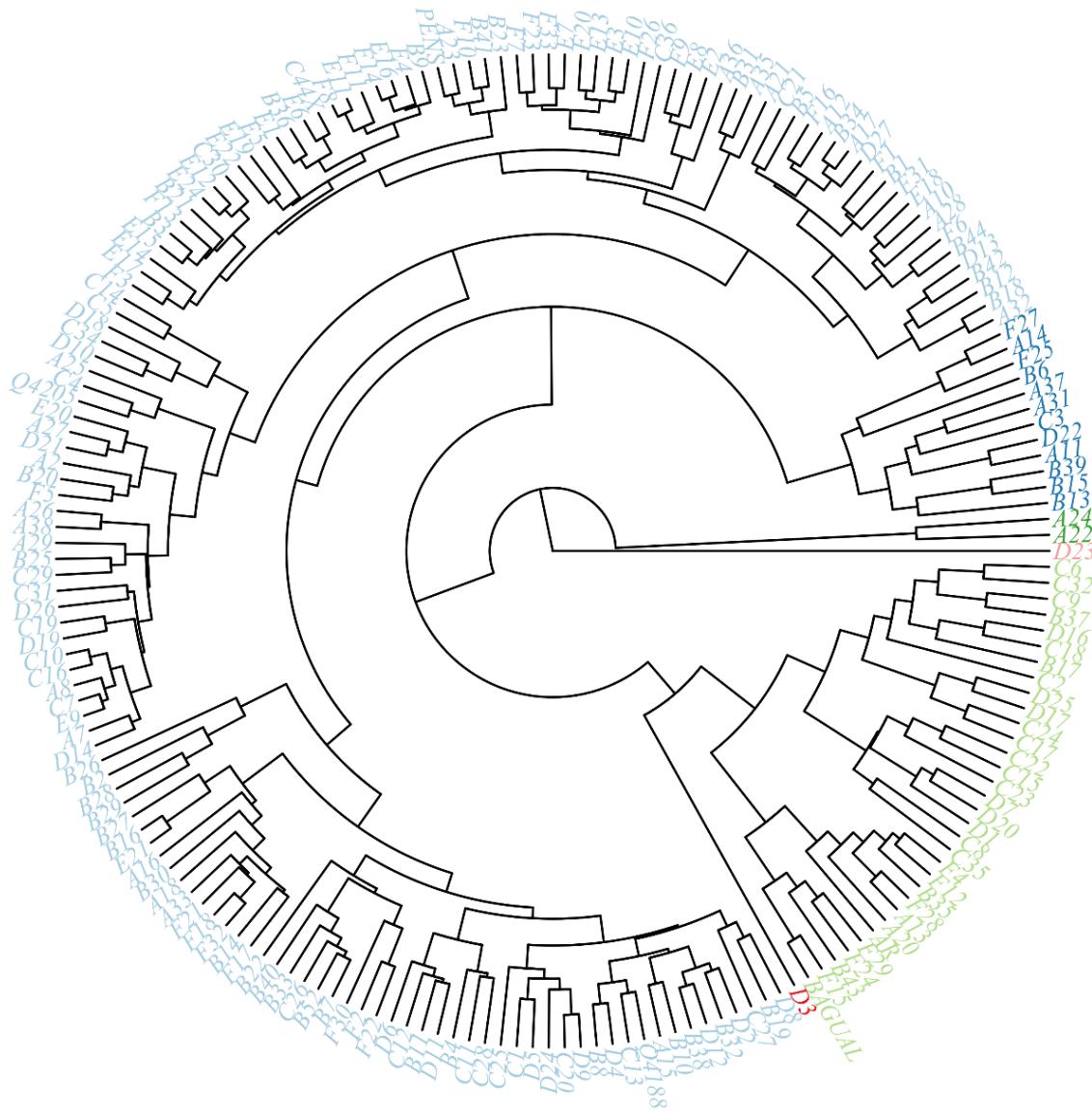


Figure 5. Dendrogram of genetic dissimilarity among hybrids of *P. notatum*, obtained by the UPGMA method, based on the Mahalanobis ( $D^2$ ) genetic distance matrix.

**4. CAPÍTULO IV<sup>3</sup>**

## **Repeatability and genotypic stability in intraspecific hybrids of *Paspalum notatum* Flügge**

**ABSTRACT:** The objective of this study was to verify the repeatability of the expression of forage characters in intraspecific hybrids of *Paspalum notatum* Flügge to aid early selection. Across five harvests, plant height, tiller population density, leaf dry matter, stem dry matter, inflorescence dry matter, total dry matter and growth habit were quantified for five parents, 189 hybrids and a commercially available cultivar as a control ( $n=195$ ). Analysis of variance, principal components analysis and structural analysis methods were used to determine the repeatability coefficients. The repeatability coefficients ( $\hat{\rho}$ ) for all evaluated characteristics generated by the different methods were between 0.05 (ANOVA II) and 0.95 (PCACov). For most of the characteristics studied, repeatability coefficients and determination coefficients were considered high. The repeatability coefficient estimates obtained for the eight characteristics evaluated with the ANOVA I and II methods were almost always lower than those obtained by PCA and structural analysis methods. Based on the covariance matrix, the principal component method generated estimates which were higher than those produced by ANOVA or structural analysis. Assuming a minimum 80% reliability to verify the relative superiority of the hybrids across all assessed traits, the five harvests proved adequate for selecting the optimal plant materials to advance to the next phase of the breeding program. However, reliable early selection for leaf dry matter, leaf:stem ratio and total dry matter required a minimum of two harvests. The genetic parameters ( $h^2$  and  $CV_g$ ) showed a favorable scenario for direct selection to increase forage production.

**Keywords:** analysis of variance, breeding, early selection, heritability, principal components, structural analysis

#### 4.1. Introduction

Grasslands provide critical ecosystem services for humanity (Sollenberger et al., 2019). In Brazil, pastures occupy 156 million hectares across six previously defined biomes (MapBiomas Project, 2021). These pastures support a national herd of ~224 million cattle (IBGE, 2019) and places Brazil as the world's second-largest beef producer, after the United States (Jank et al., 2014). Pastoral farming systems in Brazil are heavily reliant on native forage species for productive stability and conservation of natural resources. Their use can reduce costs and risks associated with livestock production, which increases long-term system sustainability (Gasparetto et al., 2021).

The genus *Paspalum* comprises several native species with important forage characteristics for animal production. They exhibit adaptability to the range of different ecosystems where they are present as a pasture component (Novo et al. 2016), which means there is high potential for genetic improvement (Motta et al. 2017). The center of genetic diversity is located in South America's tropical region (Chase, 1929; Valls, 1987). The genus is native to the southern grasslands, and is most abundant in Brazil (Rio Grande do Sul), Uruguay and Argentina, and has previously been recognized for its high yield and forage quality (Steiner et al., 2022). In Argentina, the region with the greatest diversity of species is Mesopotamia (Morrone and Zuloaga, 2012).

A major objective of forage plant breeding programs in southern Brazil is to obtain hybrids adapted to diverse edaphoclimatic conditions, which have superior biomass production compared with cultivars already on the market (Saraiva et al., 2021). There is considerable commercial and academic interest in improvement of different *Paspalum*

species to increase the productivity of native pastures and extend their use as improved cultivated pastures (Steiner et al., 2022).

The significant time and resource requirements involved in obtaining consistent data within breeding programs, considering the extensive number of genotypes and characters studied (Jank et al., 2014), necessitates the determination of the minimum number of measurements for the selection of superior genotypes (Rodrigues et al., 2020). This is a major issue faced by forage breeding programs, which need to determine the number of measurements necessary to accurately estimate the differences between genotypes (Toebe et al., 2020). This is generally determined through repeatability analysis, which aims to predict the genotypic value of a genotype over time with predefined determination coefficients (Chaves et al., 2018). The repeatability analysis reduces time, costs and labor within the experimental period to optimize the process of launching new cultivars to market (Torres et al., 2015; Rodrigues et al., 2020).

The objective was to estimate the repeatability coefficients of forage characteristics in intraspecific hybrids of *P. notatum* Flügge using different methods.

## **4.2. Material and methods**

### **4.2.1. Experimental site**

The experimental site was located at latitude 30°29'26" S, longitude 51°06'42" W, and an altitude of 62 m a.s.l in Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil. The local climate is classified as (Cfa) according to the Köppen classification (Moreno, 1961): subtropical with no defined dry season and the average air temperature of the hottest month (February) exceeds 22 °C. The 40-year (1970-2010) average minimum and maximum annual air temperatures in the region are 14.0 °C and 24.2 °C, respectively, and the annual average air temperature is 19.6 °C. The 40-year average annual rainfall is 1398 mm. Total

monthly rainfall (mm) and mean air temperature (°C) during the experimental period are reported in Figure 1.

The soil is classified as an Ultisol (USDA Soil taxonomy; Santos et al., 2018). Prior to experiment establishment soil samples (0-0.2 m) were collected. The soil analysis showed: clay = 15%; pH (H<sub>2</sub>O) = 5.4; SMP pH = 6.3; P (mg dm<sup>-3</sup>) = 15.6; K (mg dm<sup>-3</sup>) = 151.4; organic matter = 2.7%. The protocol for basal and maintenance fertilization for perennial grasses followed the recommendation of the “Comissão de Química e Fertilidade do Solo RS/SC” (CQFS RS/SC, 2004). A total of 160 kg N/ha, in the form of urea (46% N), was distributed across five split applications of 32 kg N/ha at the beginning of each regrowth period.

#### **4.2.2. Plant material and experimental design**

Three tetraploid female sexual genotypes C44X (Quarín et al., 2001), Q4188, Q4205 (Quarín et al., 2003) were sourced from the Botanical Institute of Northeast Argentina (IBONE), Corrientes, Argentina. They were crossed with two elite male tetraploid germplasm lines (ecotypes Bagual and André da Rocha) native to the state of Rio Grande do Sul (Table 1). The crosses were performed using the methodology described by Burton (1948) and later adapted by Weiler et al. (2018) to create hybrid progeny. The reproduction mode was determined based on Weiler et al. (2017). A total of 195 genotypes of *P. notatum* Flügge were evaluated, including 189 hybrids, the three female (C44X, Q4188 and Q4205) and two male (André da Rocha and Bagual) and the commercially available cultivar 'Pensacola'.

Seeds were initially germinated in Germitest paper lined in petri dishes, under controlled temperature and day length (8 h of light at 30 °C and 16 h of darkness at 20 °C) in a germination chamber. Seedlings were transplanted into seedling trays until they had

five fully expanded leaves. Seedlings were then transplanted into pots filled with Carolina Soil™, a commercial substrate composed of peat, vermiculite, organic residue and limestone. When the plants had four or more tillers, the tillers were separated and repotted into four different pots to obtain four clones to be used as replicates in the field experiment.

The field experiment followed a randomized complete block design with four replicates and was established at the UFRGS (Federal University of Rio Grande do Sul) Experiment Station on 12/26/2010. Clones were transplanted into the field spacing of 1.0 m within and between rows. Immediately after transplanting the plants were watered by sprinkler irrigation to facilitate seedling establishment.

#### **4.2.3. Procedures and traits**

The plants were cut to a residual height of 5 cm when they reached an average height of 20 cm. Five harvests were made between sowing and 2012 (1st harvest on 02/22/2011; 2nd harvest on 04/06/2011; 3rd harvest on 11/17/2011; 4th harvest on 01/09/2012 and 5th harvest on 03/16/2012). Measurements included plant height (PH, cm), tiller population density (TPD, tiller plant<sup>-1</sup>), leaf dry matter (LDM, g plant<sup>-1</sup>), stem dry matter (SDM, g plant<sup>-1</sup>), inflorescence dry matter (IDM, g plant<sup>-1</sup>), total dry matter (TDM, g plant<sup>-1</sup>) and growth habit (GH).

Non-destructive observations were made before cutting on each date. Plant height was measured from the soil surface to the curvature of the leaves, then the TPD was quantified by counting all tillers that had expanded leaves. Growth habit (GH) was determined by visual observation scale where 1 = prostrate and 5 = erect habit.

Samples were separated into morphological components: leaves (leaf blades), stems (stems and sheaths), and inflorescences, then dried in an oven at 60 °C until constant weight. Subsequently, the leaf:stem ratio (LSR) was calculated from LDM and SDM.

#### 4.2.4. Statistical analysis

Data were subjected to analysis of variance according to the following model:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + B_k + A_j + GA_{ij} + E_{ijk}$$

where  $Y_{ijk}$  is the observed value of genotype  $i$  in block  $k$  and within environment  $j$ ;  $\mu$  is the mean for the characteristic;  $G_i$  is the fixed effect of genotype  $i$  ( $i = 1, 2, 3, \dots, 195$ );  $B_k$  is the  $k$  block (replicate) fixed effect ( $k = 1, 2, 3$  and  $4$ );  $A_j$  is the random effect of environment  $j$ ;  $GA_{ij}$  is the random effect of the interaction of genotype  $i$  with environment  $j$ ; and  $E_{ijk}$  is the experimental error. Therefore,  $G_i \sim N(0, \hat{\sigma}_g^2)$ ;  $A_j \sim N(0, \hat{\sigma}_a^2)$ ;  $B_k \sim N(0, \hat{\sigma}_k^2)$ ;  $GA_{ij} \sim N(0, \hat{\sigma}_{ga}^2)$  e  $E_{ijk} \sim N(0, \hat{\sigma}_e^2)$ . The heritability ( $h^2$ ) was calculated from:

$$h^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_f^2}$$

Where  $\hat{\sigma}_g^2$  is the genotypic variance and  $\hat{\sigma}_f^2$  is the phenotypic variance. Three analysis methods were applied to the data to quantify the consistency of the estimates and obtain more precise conclusions about the observed forage characteristics. Firstly, two analysis of variance (ANOVA) models (ANOVA I and ANOVA II) were used to estimate the repeatability coefficients. Principal component analysis (PCA) then quantified the matrix of variance and covariance (PCACov) and the intraclass correlation matrix (PCACor). Finally, structural analysis (SA) quantified the variance and covariance matrix (SACov) and correlation matrix (SACor). The ANOVA was obtained through two models:

ANOVA I

$$Y_{ij} = \mu + g_i + \varepsilon_{ij},$$

Where  $Y_{ij}$  is the observation referring to the  $i$ -th genotype in the  $j$ -th harvest;  $\mu$ : overall average;  $g_i$ : random effect of the  $i$ -th genotype under the influence of the permanent environment ( $i = 1, 2, \dots, p = 195$  genotypes); and,  $\varepsilon_{ij}$ : effect of the temporary environment associated with the  $j$ -th measurement on the  $i$ -th genotype ( $j = 1, 2, \dots, \eta_i$ ).

The repeatability coefficient ( $r$ ) was obtained by:

$$\frac{C\hat{o}v(Y_{ik}, Y_{ik'})}{\sqrt{\hat{v}(Y_{ik})}\hat{V}(Y_{ik'})} = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_y^2} = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_e^2 + \hat{\sigma}_g^2}$$

## ANOVA II

$$Y_{ij} = \mu + g_i + a_j + \varepsilon_{ij},$$

Where  $Y_{ij}$  is the observation referring to the  $i$ -th genotype in the  $j$ -th harvest;  $\mu$ : overall average;  $g_i$ : random effect of the  $i$ -th genotype under the influence of the environment ( $i = 1, 2, \dots, p$ );  $a_j$ : quantifies the fixed effect of the temporary environment on the  $j$ -th measurement ( $j = 1, 2, \dots, \eta_i$ ), and  $\varepsilon_{ij}$ : quantifies experimental error established by temporary effects of the environment on the  $j$ -th measurement of the  $i$ -th genotype. The repeatability coefficient is calculated by the same equation described above for ANOVA I.

Two PCA models were then applied. The first evaluated the matrix of phenotypic variances and covariances (PCACov) by:

$$r = (\hat{\rho}) = \frac{\lambda_1 - \hat{\sigma}_Y^2}{\hat{\sigma}_Y^2(\eta - 1)}$$

Where  $\lambda_1$  is the largest eigenvalue, associated with the eigenvector, whose elements have the same sign and close magnitude;  $\hat{\sigma}_Y^2 = \hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}_e^2$  and  $\eta$ = number of harvests. The method of principal components through the correlation matrix (PCACor), consisted of obtaining a correlation matrix between the genotypes in each pair of harvests. In this matrix, the eigenvalues were determined ( $\lambda$ ) and the eigenvectors ( $\alpha$ ) normalized. The eigenvector whose elements have the same sign and close magnitudes quantified the tendency of the genotypes to maintain their relative positions over time. Therefore, the

estimator of the repeatability coefficient is the proportion of the eigenvalue associated with this eigenvector, expressed by:

$$r = \frac{\lambda_k}{\sum_j \lambda_k}$$

Being  $j = 1, 2, \dots, \eta$  in which  $\eta$  = number of harvests; and  $\lambda_k$  eigenvalue associated with the eigenvector, whose elements have the same sign and similar magnitude.  $\lambda_k$  is influenced by the number of genotype measurements (Rutledge, 1974). Therefore, r becomes more suitable for calculating the repeatability coefficient, which is obtained by:

$$r = \frac{\lambda_1 - 1}{\eta - 1}$$

Where  $\lambda_1 = 1 + (\lambda - 1)\rho$  in which  $\lambda_1$  is the eigenvalue of r associated with the eigenvector whose elements have the same sign and magnitude;  $\eta$  = number of harvests;  $\rho$  = genotypes (195). Both methods (PCACov and PCACor) were pioneered by Abeywardena (1972).

Similar to the PCA method, SA can be obtained by covariance matrix (SACov), where r is calculated, using the eigenvector ( $\alpha$ ) and the covariance matrix:

$$r = \frac{\alpha' \hat{\Gamma} \alpha - \hat{\sigma}_Y^2}{\hat{\sigma}_Y^2 (\eta - 1)}$$

The structural analysis based on the correlation matrix (SACor) is determined by:

$$r = \frac{\alpha' \hat{\Gamma} \alpha - 1}{\eta - 1}$$

Where  $\alpha' = \left[ \frac{1}{\sqrt{\eta}} \dots 1/\sqrt{\eta} \right]$  represents the eigenvector with parametric elements associated with the highest eigenvalue of r. The repeatability estimator is the arithmetic mean of the phenotypic correlations between genotypes, considering each part of evaluations and expressed by:

$$r = \frac{2}{\eta(\eta-1)} \sum_j \sum_{<j'} r_{jj'}$$

The estimator is equivalent to that obtained by the analysis of variance. The genotypic stabilization of forage characters was evaluated by ANOVA II and PCA methods based on the intraclass correlation matrix for successive measures until all evaluations were performed. Therefore,  $\eta$ -1 analyzes were performed on two consecutive measurements; the  $\eta$ -2 analyzes were performed in three consecutive evaluations until all five measurement dates had been evaluated. All data were analyzed with GENES (Cruz, 2016) statistical software.

#### **4.3. Results**

The analysis of variance of the forage variables was statistically significant for all effects tested (genotype, harvest and their interaction), except PH which showed significant differences for main effects (genotype and harvest) only (Table 2). Experimental ( $CV_e$ ; 38.3 (GH) to 128.4% (TPD)) and genetic ( $CV_g$ ; 18.1 (GH) to 77.9% (SDM)) coefficients of variation were high for all characters evaluated (Table 2). Heritability estimates ranged from 0.33 (LSR) to 0.95 (PH). Characters of interest within the forage plant genetic improvement program, associated with forage quality and production, such as LDM (0.85) and TDM (0.81) also had high heritability values.

The presence of significant Genotype\*Harvest interactions for all forage characters, except PH, reinforced the need to estimate the repeatability coefficients for the characters because responses vary over time (Table 3). For TDM, the repeatability coefficients ( $\hat{\rho}$ ) ranged from 0.19 (ANOVA II) to 0.88 (PCACov). With the exception of the ANOVA II method (54%), the coefficient of determination ( $R^2$ ) exceeded 80%, which indicated reliability in identifying *P. notatum* genotypes with superior TDM (Table 3). The pattern of the PCACov and ANOVA II, which produced the highest and lowest repeatability coefficients, respectively, was repeated for the other characteristics evaluated in the

study. The  $\hat{\rho}$  values obtained for TDM and LDM traits were closely correlated, which indicated that the genotypes evaluated in this experiment performed well for important agronomic traits required for future genetic improvement. The LSR  $\hat{\rho}$  were poor and ranged from 0.03 (ANOVA II) to 0.49 (PCACov), with associated  $R^2$  from 12 to 83%, respectively. Analysis showed PCACov, PCACor and SACov methods almost consistently gave the highest coefficients of repeatability for all characteristics evaluated, while ANOVA I, ANOVA II and SACor had the lowest values of the repeatability coefficients.

The estimated minimum number of harvests needed to select the best hybrids identified by the five analysis methods for TDM, with a precision of 0.85, ranged from 1 (PCACov) to 24 (ANOVA II; Table 4). When the precision level was increased to 0.95 minimum harvest numbers for TDM increased for all methods and ranged from 3 (PCACov) to 79 (ANOVA II). For LDM, an agronomically important trait which provides an indirect measure of forage quality, the estimated number of harvests required for a precision of 0.85 ranged from 1 (PCACov) to 16 (ANOVA II). Increasing the required precision level to 0.95 meant the minimum number of harvests increased to 3 and 54, respectively. Across all traits evaluated, the estimated minimum number of harvests identified by all five analysis methods was the highest for LSR and varied substantially across methods within a specific precision level. For example, the minimum number of harvests ranged from 6 (PCACov) to 198 (ANOVA II) with precision of 0.85 and from 20 (PCACov) to 663 (ANOVA II) with a precision of 0.95.

Estimated minimum harvest numbers were higher for ANOVA II and I methods, when compared with PCACov, PCACor and SA. The principal components method generated the lowest estimates, especially when based on the variance and covariance matrix (PCACov). Structural analysis (SA) produced values very close to PCACor for most of the characteristics studied.

In general, forage characteristics evaluated by PCACor, had higher genotypic stability values than those produced by the ANOVA II model (Table 5). For LDM, SDM, LSR, IDM and TDM variables the highest repeatability coefficients were obtained when harvests 1 and 2 were correlated, regardless of the method used. The highest repeatability coefficients for TPD ( $\hat{\rho} = 0.84$ ;  $R^2 = 91.5\%$ ) and GH ( $\hat{\rho} = 0.67$ ;  $R^2 = 80.2\%$ ) traits were observed for the correlation of harvests 3 and 4, and for PH using harvests 4 and 5 ( $\hat{\rho} = 0.94$ ;  $R^2 = 96.7\%$ ). High repeatability coefficients were observed for most of the characters studied. The exception was the LSR trait, which indicated this trait was not stable among the genotypes evaluated.

#### **4.4. Discussion**

The basic premise for selection is the presence and knowledge of genetic variability within the population (Nielson et al., 2014; Figueiredo et al., 2019; Sant'Anna et al., 2021; Steiner et al., 2022). The findings of the present study indicated genetic variability existed among the hybrids evaluated, which allows genetic gain via direct selection in all traits quantified (Table 2).

The experimental ( $CV_e$ ) and genetic ( $CV_g$ ) variation coefficients were higher than those found by other authors who have previously evaluated forage characteristics (Machado et al., 2021; Silveira et al., 2022) or seed production traits (Lopes et al., 2017; Lopes et al., 2019) of *P. notatum* hybrids. The current experiment found  $CV_e$  was always greater than  $CV_g$  (Table 2), which showed the environmental effect dominated results rather than genetic effects. This result is contradictory to previous studies because with greater experimental precision the greatest expressions of genotypic variability were not expressed (Shimoya et al., 2002). The tendency of a greater  $CV_e$  compared with  $CV_g$  was not observed by Lopes et al. (2019). Precision ( $CV_e$ ) and repeatability ( $\hat{\rho}$ ) are influenced

by management decisions, experimental design and/or biotic and abiotic factors (Johnson & Frey, 1967; Vela-Cardenas & Frey, 1972; Neyhart et al., 2022). Furthermore, early selection in perennial plants can be affected by numerous factors, such as slow establishment, which would lead to high coefficients of experimental variation. Additionally, the seedlings were very young when transplanted, which may have led to an increase in the coefficients of variation. Conversely, high  $CV_e$  values can mean greater phenotypic variation (Wang et al., 2022). At the same time,  $CV_g$  provides information about the magnitude of the variability present within the population. This allows comparison of the levels of genetic variability present among different genotypes, environments and traits (Ferrão et al., 2008). The current experiment has confirmed that genetic variability studies within breeding programs must quantify both  $CV_e$  and  $CV_g$  during analysis (Cortes et al., 2019). Populations which exhibit high  $CV_g$  indicate potential for improvement via genetic gains in the breeding program (Zanata et al., 2010). The main advantage of utilizing the coefficient of variation in trait analysis is to enable the quantification and weighting of the proportion of variation within a population, which exists due to genetic and environmental factors (Kampa et al., 2020). This parameter, along with the heritability ( $h^2$ ), provides the basis for decision-making to increase forage production within the current *P. notatum* Flügge breeding program.

Heritability ( $h^2$ ) values quantify how much of the total observed variation was caused by genotypic factors (Ferreira et al., 2020). Resende (2015) classified  $h^2$  into three classes; low ( $h^2 < 0.15$ ), moderate ( $0.15 < h^2 < 0.50$ ) and high ( $h^2 > 0.50$ ). Accordingly, the heritability parameter generated in the analysis of this experiment (Table 2) were high for most of forage traits evaluated. The exception was LSR, which is greatly influenced by environmental conditions over time. Higher heritability values allow the identification of superior hybrids within the population studied. Selection of these hybrids in the next

stage of the breeding program could improve forage gains obtained in subsequently selected progeny (Majidi et al., 2009).

The high number of genotypes and characters studied within breeding programs (Jank et al., 2014), requires significant time and resources to obtain consistent data, and needs an estimate of the minimum number of measurements for selection of superior genotypes (Rodrigues et al., 2020). Therefore, several studies have been conducted in order to estimate the repeatability ( $\hat{\rho}$ ) of characteristics of interest in forage plants including *Urochloa spp.* (Basso et al., 2009; Souza Sobrinho et al., 2010; Teixeira et al., 2011; Martuscello et al., 2013; Matias et al., 2016; Coêlho et al., 2018; Figueiredo et al., 2019), *Megathyrsus maximus* (Martuscello et al., 2007; Braz et al., 2015; Martuscello et al., 2015; Coêlho et al., 2018; Ferreira et al., 2019), *Medicago sativa* L. (Botrel et al., 2000; Ferreira et al., 2010), *Pennisetum purpureum* Schum. (Shimoya et al., 2002; Rodrigues et al., 2020) and *Lolium multiflorum* Lamarck (Rios et al., 2019). Until now this information has not been available *Paspalum* species. The  $\hat{\rho}$  value indicates a consistent ranking of genotypic performance in a specific location over time (Neyhart et al., 2022). In our study,  $\hat{\rho}$  values were medium to high for most characteristics (Table 3), based on the criteria of Resende (2002). In most cases, the highest estimates were obtained through the PCACov analysis method, followed by PCACor. These results are supported by previously published work, which has also shown estimates of  $\hat{\rho}$  by ANOVA are generally lower than the estimates obtained by other methods (Cargnelutti Filho et al., 2004; Martuscello et al., 2007; Martuscello et al., 2015). Our work showed that the PCACov method estimates of  $\hat{\rho}$  tended to be higher than those obtained by the other methods, which is supported by the results of Martuscello et al. (2015). The difference among  $\hat{\rho}$  estimates from the analysis methods indicated evaluation by more than one analysis method is required to obtain a reliable parameter. Evaluation of the analysis procedure as a whole means the real value

can probably be found within the range of estimates calculated (Martuscello et al., 2007). In this context, identification of the most appropriate analysis method should be used as a strategy to improve parameter estimates for future decision making (Martuscello et al., 2015).

The study of genotypic stabilization contributes to increasing the reliability of the selection process for a trait by identifying groups of repeated measurements with a higher level of association. This is based on the assumption that gene expression can be influenced not only by the stage of development but also by various climatic conditions and management changes that plants experience throughout the year (Braz et al., 2015). For most traits studied here, genotypic stabilization between two harvests showed the highest correlation (Table 5). The evaluation between successive harvests may not represent genotypic stabilization, but the occurrence of two very similar harvests (Ferreira et al., 2019). This probably reflects they have been exposed to similar environmental conditions, rather than non-adjacent harvests, which likely experience less similar environmental conditions due to seasonal changes. It is necessary to include longer evaluation periods, with more harvests to determine genotypic stabilization. Thus, the evaluation of stabilized genotypes to obtain  $\hat{\rho}$  estimates is extremely important for selecting material within breeding programmes (Martuscello et al., 2015).

Finally, our study reports for the first time, estimates of the repeatability coefficient for forage production traits in hybrids of *P. notatum* Flügge. Our results showed values differed among the methodologies applied (Table 3). In general, the repeatability coefficient estimates were of medium to high magnitude for most traits evaluated and indicated reliability in identifying superior hybrids of *P. notatum* Flügge. For all methods evaluated it was shown that increasing the accuracy from 0.85 to 0.95 would require a large increase in the number of harvests, but add little in terms of precision especially

when there are many hybrids to be evaluated within the improvement program. In addition, the  $h^2$  and  $CV_g$  genetic parameters indicated a favorable situation for genetic gains with selection within the studied population.

#### **4.5. Conclusion**

For reliable early selection based on LDM, LSR and TDM traits of *P. notatum* Flügge, two to four harvests are recommended. Broad heritability for most of the characters studied suggested this would provide a favorable situation for direct selection for increased forage production.

The principal component analysis, based on the covariance matrix, had the highest repeatability estimates compared with the other methods. For early selection this method is recommended for identification of superior hybrids of *P. notatum* Flügge.

#### **4.6. References**

- Abeywardena, V. 1972. An application of principal component analysis in genetics. Journal of Genetics, 61:27-51. <https://doi.org/10.1007/BF02984099>
- Basso, K. C.; Resende, R. M. S.; Valle, C. B. D.; Gonçalves, M. C. and Lempp, B. 2009. Avaliação de acessos de *Brachiaria brizantha* Stapf e estimativas de parâmetros genéticos para caracteres agronômicos. Acta Scientiarum. Agronomy 31:17-22. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v31i1.6605>
- Botrel, M. de A.; Ferreira, F. de P.; Cruz, C. D.; Pereira, A. V.; Viana, M. C. M.; Rocha, R. and Miranda, M. 2000. Estimativas de coeficientes de repetibilidade para produção de matéria seca em cultivares de alfafa, sob diferentes ambientes. Revista Ceres 47:651-663.

- Braz, T. G. S.; Fonseca, D. M.; Jank, L.; Cruz, C. D. and Martuscello, J. A. 2015. Repeatability of agronomic traits in *Panicum maximum* (Jacq.) hybrids. *Genetics and Molecular Research* 14:19282-19294. <https://doi.org/10.4238/2015.december.29.38>
- Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE). *Censo Agropecuário 2017: Resultados Definitivos*; IBGE: Rio de Janeiro, Brazil, 2019.
- Burton, G. W. 1948. Artificial fog facilitates *Paspalum* emasculation 1. *Agronomy Journal* 40:281-282.
- Cargnelutti Filho, A.; Souza Castilhos, Z. M. and Savian, L. S. J. F. 2004. Análise de repetibilidade de caracteres forrageiros de genótipos de *Panicum maximum*, avaliados com e sem restrição solar. *Ciencia Rural* 34:1-8. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782004000300011>
- Chase, A. 1929. The North American species of *Paspalum*. Contributions from the United States National Herbarium 28:1-310.
- Chaves, G. G.; Cargnelutti Filho, A.; Carini, F.; Kleinpaul, J. A.; Neu, I. M. M. and Procedi, A. 2018. Tamanho de parcela e número de repetições para avaliação de caracteres vegetativos em centeio. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 13:1-11. <https://doi.org/10.5039/agraria.v13i3a5563>
- Coêlho, J. J.; Mello, A. C. L. D.; Santos, M. V. F. D.; Dubeux Junior, J. C. B.; Cunha, M. V. D. and Lira, M. D. A. 2018. Prediction of the nutritional value of grass species in the semiarid region by repeatability analysis. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 53:378-385. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2018000300013>
- Cortes, D. F. M.; Santa-Catarina, R.; Vettorazzi, J. C. F.; Ramos, H. C. C. R.; Viana, A. P. and Pereira, M. G. 2019. Development of superior lines of papaya from the Formosa group using the pedigree method and REML/BLUP procedure. *Bragantia* 78:350-360. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.20180253>

Comissão de Química e Fertilidade do Solo (CQFS RS/SC). 2004. Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. 10th Edition, Sociedade Brasileira de Ciencia do Solo/Núcleo Regional Sul, Porto Alegre.

Cruz, C. D. 2016. Genes Software-extended and integrated with the R, Matlab and Selegen.

Acta Scientiarum. Agronomy 38:547-552.

<https://doi.org/10.4025/actasciagron.v38i4.32629>

Ferrão, R. G.; Cruz, C. D.; Ferreira, A.; Cecon, P. R.; Ferrão, M. A. G.; Fonseca, A. F. A.; Carneiro, P. C. S. and Silva, M. F. 2008. Parâmetros genéticos em café Conilon. Pesquisa Agropecuária Brasileira

43:61-69. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2008000100009>

Ferreira, F. M.; De Carvalho Rocha, J. R. do A. S.; Alves, R. S., Elizeu, A. M.; Benites, F. R. G.; De Resende, M. D. V.; de Souza Sobrinho, F. and Bhering, L. L. 2020. Estimates of repeatability coefficients and optimum number of measures for genetic selection of *Cynodon* spp. Euphytica 216:1-11. <https://doi.org/10.1007/s10681-020-02605-x>

Ferreira, M. R.; Martuscello, J. A.; Braz, T. G. dos S.; Nascimento, A. A.; Jank, L.; Assis, J. A. de; Almeida, O. G. de; Reis, G. de A.; Santos, M. V. and Santos, M. F. 2019. Repeatability and genotypic stability of agronomic characteristics in *Panicum maximum* Jacq. Chilean Journal of Agricultural Research 79:547-556. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392019000400547>

Ferreira, R. P.; Vasconcelos, E. D.; Cruz, C. D.; Barioni Junior, W.; Rassini, J. B.; Freitas, A. R.; Vilela, D. and Moreira, A. 2010. Determinação do coeficiente de repetibilidade e estabilização genotípica das características agronômicas avaliadas em genótipos de alfafa no ano de estabelecimento. Revista Ceres 57:642-647. <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2010000500012>

- Figueiredo, U. J. D.; Berchembrock, Y. V.; do Valle, C. B.; Barrios, S. C. L.; Quesenberry, K. H.; Muñoz, P. R. and Nunes, J. A. R. Evaluating early selection in perennial tropical forages. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 19:291-299. <https://doi.org/10.1590/1984-70332019v19n3a41>
- Gasparetto, B. F.; Radunz, L. L.; Lopes, R. R.; Franke, L. B. and Martinelli, J. A. 2021. Fungi associated with *Paspalum guenoarum* seeds: their impact on physiology and control. *Ciência Rural* 51:e20200497. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200497>
- Jank, L.; Barrios, S. C.; do Valle, C. B.; Simeão, R. M. and Alves, G. F. 2014. The value of improved pastures to Brazilian beef production. *Crop and Pasture Science* 65:1132-1137. <https://doi.org/10.1071/CP1331>
- Johnson, G. R.; Frey, K. J. 1967. Heritabilities of quantitative attributes of oats (*Avena* sp.) at varying levels of environmental stress. *Crop Science* 7:43-46.
- Kampa, M. B.; Homczinski, I.; Roque, R. H.; Figueiredo Filho, A.; Peres, F. S. B. and Tambarussi, E. V. 2020. Variabilidade genética em progêneres de *Campomanesia xanthocarpa* Mart. ex O. Berg em viveiro. *Scientia Forestalis* 48:e2935. <https://doi.org/10.18671/scifor.v48n125.10>
- Lopes, R. R.; Franke, L. B.; Souza, C. H. L. de; Bertoncelli, P.; Graminho, L. A.; Ávila, M. R. de; Pereira, E. A. and Motta, E. A. M. da. 2019. Genetic assessment of seed yield-related traits in superior hybrids of *Paspalum plicatulum* × *Paspalum guenoarum*. *Revista Brasileira de Zootecnia* 48:e20190075. <https://doi.org/10.1590/rbz4820190075>
- Lopes, R. R.; Souza, C. H. L. D.; Pereira, E. A.; Gasparetto, B. F.; Dall'Agnol, M. and Franke, L. B. 2017. Genetic variability of the components of seed yield in interspecific hybrids of *Paspalum*. *Revista Brasileira de Zootecnia* 46:296-302. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000400004>

- Machado, J. M.; Motta, E. A. M. da; Barbosa, M. R.; Weiler, R. L.; Simioni, C.; Silveira, D. C.; Mills, A.; Pereira, E.A. and Dall'Agnol, M. 2021. Multivariate analysis reveals genetic diversity in *Paspalum notatum* Flügge. Revista Brasileira de Zootecnia 50:e20200252. <https://doi.org/10.37496/rbz5020200252>
- Majidi, M. M.; Mirlohi, A. and Amini, F. 2009. Genetic variation, heritability and correlations of agro-morphological traits in tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). Euphytica 167:323-331. <https://doi.org/10.1007/s10681-009-9887-6>
- Martuscello, J. A.; Braz, T. G. D. S.; Jank, L.; Cunha, D. D. N. F. V. D.; Souza, M. W. M.; Brito, G. F. D. and Oliveira, L. P. D. 2013. Repeatability of agronomic characters in *Brachiaria brizantha* cultivars. Revista Brasileira de Zootecnia 42:30-35. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982013000100005>
- Martuscello, J. A.; Braz, T. G. D. S.; Jank, L.; Cunha, D. D. N. F. V. D.; Lima, B. P. D. S. and Oliveira, L. P. D. 2015. Repeatability and phenotypic stabilization of *Panicum maximum* accessions. Acta Scientiarum. Animal Sciences 37:15-21. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v37i1.23206>
- Martuscello, J. A.; Jank, L.; Fonseca, D. M. D.; Cruz, C. D. and Cunha, D. D. N. F. V. D. 2007. Repetibilidade de caracteres agronômicos em *Panicum maximum* Jacq. Revista Brasileira de Zootecnia 36:1975-1981. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982007000900005>
- Matias, F. I.; Barrios, S. C. L.; Valle, C. B. D.; Mateus, R. G.; Martins, L. B. and Moro, G. V. 2016. Estimate of genetic parameters in *Brachiaria decumbens* hybrids. Crop Breeding and Applied Biotechnology 16:115-122. <https://doi.org/10.1590/1984-70332016v16n2a18>
- Moreno, J. A. 1961. Clima do Rio Grande do Sul. Secretaria da Agricultura, Porto Alegre.
- Morrone, O.; Aagesen, L.; Scataglini, M. A.; Salariato, D. L.; Denham, S. S.; Chemisquy, M. A.; Sede, S. M.; Giussani, L. M.; Kellogg, E. A. and Zuloaga, F. O. 2012. Phylogeny of the *Paniceae* (Poaceae: Panicoideae): integrating plastid DNA sequences and morphology into a new

classification. Cladistics 28:333-356. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2011.00384.x>

Motta, E. A. M. D.; Dall'Agnol, M.; Pereira, E. A.; Machado, J. M. and Simioni, C. 2017. Forage value of superior interspecific hybrids of *Paspalum*. Revista Ciência Agronômica 48:191-198. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170022>

Neyhart, J. L.; Gutierrez, L. and Smith, K. P. Optimizing the choice of test locations for multitrait genotypic evaluation. Crop Science 62:192-202. <https://doi.org/10.1002/csc2.20657>

Nielsen, H. B.; Almeida, M.; Juncker, A. S.; Rasmussen, S.; Li, J.; Sunagawa, S.; Plichta, D. R.; Gautier, L.; Pedersen, A. G.; Le Chatelier, E.; Pelletier, E.; Bonde, I.; Nielsen, T.; Manichanh, C.; Arumugam, M.; Batto, J.-M.; Quintanilha dos Santos, M. B.; Blom, N.; Borruel, N.; Burgdorf, K. S.; Boumezbeur, F.; Casellas, F.; Doré, J.; Dworzynski, P.; Guarner, F.; Hansen, T.; Hildebrand, F.; Kaas, R. S.; Kennedy, S.; Kristiansen, K.; Kultima, J. R.; Léonard, P.; Levenez, F.; Lund, O.; Moumen, B.; Le Paslier, D.; Pons, N.; Pedersen, O.; Prifti, E.; Qin, J.; Raes, J.; Sørensen, S.; Tap, J.; Tims, S.; Ussery, D. W.; Yamada, T.; Renault, P.; Sicheritz-Ponten, T.; Bork, P.; Wang, J.; Brunak, S. and Ehrlich, S. D. 2014. Identification and assembly of genomes and genetic elements in complex metagenomic samples without using reference genomes. Nature biotechnology 32:822-828. <https://doi.org/10.1038/nbt.2939>

Novo, P. E.; Valls, J. F. M.; Galdeano, F.; Honfi, A. I.; Espinoza, F. and Quarín, C. L. 2016. Interspecific hybrids between *Paspalum plicatulum* and *P. oteroi*: a key tool for forage breeding. Scientia Agricola 73:356-362. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0218>  
 Projeto MapBiomass – Mapeamento Anual de Cobertura e Uso da Terra do Brasil - Coleção 6, acessado em 09/12/2022 através do link: <[https://mapbiomas-br-site.s3.amazonaws.com/Fact\\_Sheet\\_PASTAGEM\\_13.10.2021\\_ok\\_ALTA.pdf](https://mapbiomas-br-site.s3.amazonaws.com/Fact_Sheet_PASTAGEM_13.10.2021_ok_ALTA.pdf)>

- Quarin, C. L.; Espinoza, F.; Martinez, E. J.; Pessino, S. C.; Bovo, O. A. 2001. A rise of ploidy level induces the expression of apomixis in *Paspalum notatum*. *Sexual Plant Reproduction* 13:243-249. <https://doi.org/10.1007/s004970100070>
- Quarin, C. L.; Urbani, M. H.; Blount, A. R.; Martinez, E. J.; Hack, C. M.; Burton, G. W. and Quesenberry, K. H. 2003. Registration of Q4188 and Q4205, sexual tetraploid germplasm lines of bahiagrass. *Crop Science* 43:745-746. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.7450>
- Resende, M. D. V. Genética quantitativa e de populações. Viçosa, MG: Suprema, 2015. 463p.
- Resende, M.D.V. Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002.
- Rios, E. F.; Kenworthy, K. E.; Gezan, S. A. and Munoz, P. R. 2019. Genetic parameters for phenotypic traits in annual ryegrass. *Crop Science* 59:2128-2140. <https://doi.org/10.2135/cropsci2019.02.0126>
- Rodrigues, E. V.; Daher, R. F.; Gravina, G. de A.; Viana, A. P.; Araújo, M. do S. B. de; Oliveira, M. L. F.; Vivas, M.; Menezes, B. R. da S. and Pereira, A. V. Repeatability estimates and minimum number of evaluations for selection of elephant-grass genotypes for herbage production. *Bioscience Journal* 36:30-41. <https://doi.org/10.14393/BJv36n1a2020-42075>.
- Sant'Anna, I. D. C.; Gouvêa, L. R. L.; Martins, M. A.; Scaloppi Junior, E. J.; de Freitas, R. S. and Goncalves, P. D. S. 2021. Genetic diversity associated with natural rubber quality in elite genotypes of the rubber tree. *Scientific Reports* 11:1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80110-w>
- Saraiva, K. M.; Dall'Agnol, M.; Da Motta, E. A. M.; Pereira, E. A.; de Souza, C. H. L.; Simioni, C.; Weiler, R. L.; Kopp, M. M.; Schneider-Canny, R. and Barbosa, M. R. 2021. Hybrids of *Paspalum plicatulum* × *P. guenoiarum*: Selection for forage yield and cold tolerance in a

subtropical environment. Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales 9:138-143. [https://doi.org/10.17138/tgft\(9\)138-143](https://doi.org/10.17138/tgft(9)138-143)

Shimoya, A.; Pereira, A. V.; Ferreira, R. D. P.; Cruz, C. D. and Carneiro, P. C. S. 2002. Repetibilidade de características forrageiras do capim-elefante. Scientia Agricola 59:227-234. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162002000200004>

Silveira, D. C.; Machado, J. M.; Motta, E. A. M.; Barbosa, M. R.; Simioni, C.; Weiler, R. L.; Mills, A.; Sampaio, R.; Brunes, A. P. and Dall'Agnol, M. 2022. Genetic parameters, prediction of gains and intraspecific hybrid selection of *Paspalum notatum* Flügge for forage using REML/BLUP. Agronomy 12:1654. <https://doi.org/10.3390/agronomy12071654>

Sollenberger, L. E.; Kohmann, M. M.; Dubeux Jr, J. C. and Silveira, M. L. 2019. Grassland management affects delivery of regulating and supporting ecosystem services. Crop Science 59:441-459. <https://doi.org/10.2135/cropsci2018.09.0594>

Souza Sobrinho, F.; Borges, V.; Lédo, F. J. D. S. and Kopp, M. M. 2010. Repetibilidade de características agronômicas e número de cortes necessários para seleção de *Urochloa ruziziensis*. Pesquisa Agropecuária Brasileira 45:579-584. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2010000600007>

Steiner, M. G.; Weiler, R. L.; Brunes, A. P.; Mills, A.; Dall'Agnol, M.; Nabinger, C., Motta, E. A. M. da; Silveira, D. C.; Sampaio, R. and Tessis, G., 2022. Characterization and genetic diversity in *Paspalum notatum* Flügge accessions: Morphological and geographical distance. Revista Brasileira de Zootecnia 51:e20220015. <https://doi.org/10.37496/rbz5120220015>

Teixeira, V. I.; Dubeux Jr, J. C. B.; Mello, A. C. L. D.; Lira Jr, M. D. A.; Lira, M. D. A. and Saraiva, F. M. 2011. Repetibilidade de variáveis produtivas e qualitativas da forragem e da excreta bovina em pastagem de braquiária. Pesquisa Agropecuária Brasileira 46:655-662. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011000600012>

- Toebe, M.; Cargnelutti Filho, A.; Mello, A. C.; Souza, R. R. D.; Soares, F. D. S.; Silva, L. S. D. and Segatto, A. 2020. Plot size and replications number for triticale experiments. Ciência Rural 50: e20200222. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200222>.
- Torres, F. E.; do Valle, C. B.; Lempp, B.; Teodoro, P. E.; Santos, A. D. and da Silva Junior, C. A. 2015. Minimum number of measurements for accurate evaluation of qualitative traits in *Urochloa brizantha*. Journal of Agronomy 14:180-184. <https://dx.doi.org/10.3923/ja.2015.180.184>
- Valls, J. F. M. 1987. Recursos genéticos de espécies de *Paspalum* no Brasil. Encuentro Internacional sobre mejoramiento genético de *Paspalum* 3-13, Nova Odessa, Brasil.
- Vela-Cardenas, M.; Frey, K. J. 1972. Optimum environment for maximizing heritability and genetic gain from selection. Iowa State Journal of Science 46:381-394.
- Wang, X.; Yan, M.; Wang, X.; Wu, Z.; Zhou, J.; Wang, C.; Chen, R.; Qin, X.; Yang, H.; Wei, H. and Gu, W., 2022. The phenotypic diversity of *Schisandra sphenanthera* fruit and SVR model for phenotype forecasting. Industrial Crops and Products 186:115162. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115162>
- Weiler, R. L.; Dall'Agnol, M.; Simioni, C.; Krycki, K. C.; Dahmer, N. and Guerra, D. 2017. Determination of the mode of reproduction of bahiagrass hybrids using cytoembryological analysis and molecular markers. Revista Brasileira de Zootecnia 46:185-191. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000300002>
- Weiler, R. L.; Dall'Agnol, M.; Simioni, C.; Krycki, K. C.; Pereira, E. A.; Machado, J. M.; Motta, É. A. M. D. 2018. Intraspecific tetraploid hybrids of *Paspalum notatum*: agronomic evaluation of segregating progeny. Scientia Agricola 75:36-42. <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2016-0354>

Zanata, M.; Freitas, M. L. M.; Silva, M. T.; Morais, E.; Zanatto, A. C. S. and Sebbenn, A. M. 2010. Parâmetros genéticos e ganhos na seleção em teste de progêneres de polinização aberta de *Eucalyptus pellita*, Batatais-SP. Revista do Instituto Florestal 22:233-242.

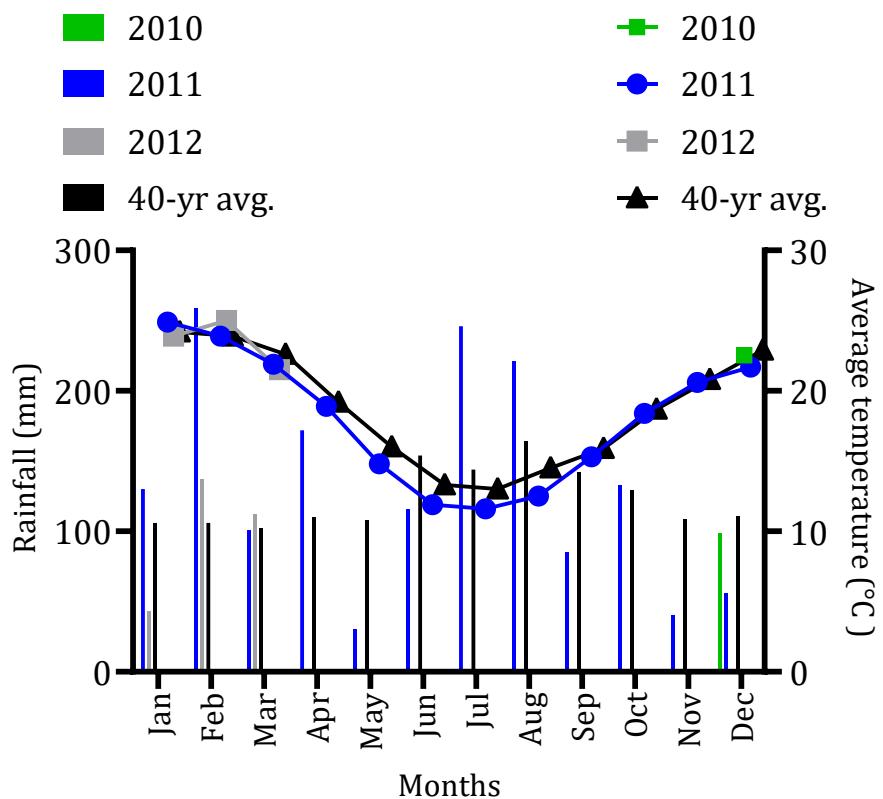


Figure 1. Total monthly rainfall (mm; bars) and mean monthly air temperature (°C; lines) during the experimental period. Black lines and bars are the 40-yr mean (1970-2010).

Table 1. Female ( $\text{♀}$  4x;  $n=3$ ), male ( $\text{♂}$  4x;  $n=2$ ) parents and hybrids ( $n=189$ ) of *Paspalum notatum* Flügge evaluated. The commercially available cultivar 'Pensacola' was included as a control. (Total lines evaluated  $n=195$ ).

| $\text{♂}$ 4x | $\text{♀}$ 4x  | Family | Nº hybrids <sup>1</sup> | Hybrids   |
|---------------|----------------|--------|-------------------------|---|
| Q4188         | André da Rocha | A      | 29                      | A10; A11; A12; A13; A14; A15; A16; A17; A18; A2; A20; A21; A22; A23; A24; A25;<br>A26; A27; A28; A29; A31; A32; A33; A35; A36; A37; A38; A7; A8   |
| Q4188         | Bagual         | B      | 44                      | B1; B10; B11; B12; B13; B14; B15; B16; B17; B18; B19; B2; B20; B21; B22; B23; B25;<br>B26; B27; B28; B29; B3; B30; B31; B32; B33; B34; B35; B36; B37; B38; B39; B4; B40;<br>B41; B42; B43; B44; B5; B52; B6; B7; B8; B9 |
| Q4205         | André da Rocha | C      | 35                      | C1; C10; C11; C12; C13; C14; C15; C16; C17; C18; C19; C2; C20; C21; C22; C23; C24;<br>C25; C26; C27; C28; C29; C3; C30; C31; C32; C34; C35; C36; C4; C5; C6; C7; C8; C9   |
| Q4205         | Bagual         | D      | 26                      | D1; D10; D11; D12; D13; D14; D16; D17; D18; D19<br>D2; D20; D21; D22; D23; D24; D25; D26; D27; D3; D4; D5; D6; D7; D8; D9   |
| C44X          | André da Rocha | E      | 23                      | E1; E10; E11; E12; E13; E14; E15; E16; E17; E18; E19; E2; E20; E21; E22; E24; E3;<br>E4; E5; E6; E7; E8; E9   |
| C44X          | Bagual         | F      | 32                      | F1; F10; F11; F12; F13; F14; F15; F16; F17; F18; F2; F20; F21; F22; F23; F24; F25;<br>F26; F27; F28; F29; F3; F30; F31; F32; F33; F4; F5; F6; F7; F8; F9  |

Table 2. Summary of analysis of variance for forage traits in 195 genotypes of *Paspalum notatum* Flügge for leaf dry matter (LDM); stem dry matter (SDM); leaf:stem ratio (LSR); inflorescence dry matter (IDM); total dry matter (TDM); tiller population density per plant (TPD); plant height (PH) and growth habit (GH).

| SV                  | GL   | Medium square |            |            |            |
|---------------------|------|---------------|------------|------------|------------|
|                     |      | LDM           | SDM        | LSR        | IDM        |
| Blocks              | 3    | 11580.56      | 1158.24    | 1150.13    | 201.93     |
| Genotype            | 194  | 5066.38**     | 951.85**   | 1431.43**  | 159.59**   |
| Harvest             | 4    | 214768.30**   | 49129.64** | 59181.89** | 10134.09** |
| Interaction         | 776  | 739.84**      | 328.80**   | 953.36**   | 73.07**    |
| Error               | 2922 | 347.33        | 75.54      | 522.90     | 19.57      |
| Maximum             | -    | 228.70        | 151.20     | 520.00     | 82.90      |
| Minimum             | -    | 0.10          | 0.03       | 0.10       | 0.02       |
| Mean                | -    | 25.46         | 10.57      | 13.04      | 5.13       |
| CV <sub>g</sub> (%) | -    | 61.86         | 77.91      | 40.22      | 74.76      |
| CV <sub>e</sub> (%) | -    | 78.38         | 121.32     | 188.14     | 159.01     |
| h <sup>2</sup>      | -    | 0.85          | 0.65       | 0.33       | 0.54       |

| SV                  | GL   | Medium square |              |                     |         |
|---------------------|------|---------------|--------------|---------------------|---------|
|                     |      | TDM           | TPD          | PH                  | GH      |
| Blocks              | 3    | 24253.66      | 122018.51    | 208.98              | 17.10   |
| Genotype            | 194  | 11155.69**    | 67292.50**   | 329.70**            | 5.07**  |
| Harvest             | 4    | 578112.61**   | 6038487.70** | 15160.67**          | 36.82** |
| Interaction         | 776  | 2126.06*      | 30099.07*    | 16.75 <sup>ns</sup> | 1.31**  |
| Error               | 2922 | 744.79        | 13467.87     | 22.83               | 0.84    |
| Maximum             | -    | 440.10        | 6223.00      | 56.00               | 5       |
| Minimum             | -    | 0.10          | 1.00         | 3.00                | 1       |
| Mean                | -    | 36.15         | 96.82        | 14.66               | 3       |
| CV <sub>g</sub> (%) | -    | 62.93         | 47.71        | 28.92               | 18.13   |
| CV <sub>e</sub> (%) | -    | 80.83         | 128.40       | 34.93               | 38.31   |
| h <sup>2</sup>      | -    | 0.81          | 0.55         | 0.95                | 0.74    |

Notes: significance levels are: \* = P<0.01; \*\* = 0.05 and ns = not significant. CV<sub>g</sub>: genetic coefficient of variation; CV<sub>e</sub>: experimental coefficient of variation; h<sup>2</sup>: heritability.

Table 3. Estimates of the repeatability coefficient ( $\hat{\rho}$ ) and their respective determination coefficients ( $R^2$ ) derived from different analysis methods for leaf dry matter (LDM); stem dry matter (SDM); leaf:stem ratio (LSR); inflorescence dry matter (IDM); total dry matter (TDM); tiller population density per plant (TPD); plant height (PH) and growth habit (GH) measured in 195 genotypes of *Paspalum notatum* Flügge.

| Methods* | LDM          |       | SDM          |       | LSR          |       | IDM          |       |
|----------|--------------|-------|--------------|-------|--------------|-------|--------------|-------|
|          | $\hat{\rho}$ | $R^2$ | $\hat{\rho}$ | $R^2$ | $\hat{\rho}$ | $R^2$ | $\hat{\rho}$ | $R^2$ |
| ANOVA I  | 0.54         | 85.40 | 0.27         | 65.46 | 0.09         | 33.40 | 0.19         | 54.22 |
| ANOVA II | 0.26         | 63.73 | 0.11         | 39.16 | 0.03         | 12.54 | 0.05         | 21.89 |
| PCACov   | 0.85         | 96.71 | 0.90         | 97.78 | 0.49         | 82.97 | 0.93         | 98.58 |
| PCACor   | 0.76         | 93.94 | 0.53         | 84.87 | 0.23         | 59.67 | 0.44         | 79.75 |
| SACov    | 0.75         | 93.90 | 0.51         | 84.08 | 0.15         | 47.80 | 0.40         | 77.22 |
| SACor    | 0.54         | 85.40 | 0.27         | 65.46 | 0.09         | 33.40 | 0.19         | 54.22 |
| Methods* | TDM          |       | TPD          |       | PH           |       | GH           |       |
|          | $\hat{\rho}$ | $R^2$ | $\hat{\rho}$ | $R^2$ | $\hat{\rho}$ | $R^2$ | $\hat{\rho}$ | $R^2$ |
| ANOVA I  | 0.46         | 80.94 | 0.20         | 55.27 | 0.79         | 94.92 | 0.37         | 74.23 |
| ANOVA II | 0.19         | 54.46 | 0.02         | 9.48  | 0.33         | 71.37 | 0.32         | 70.64 |
| PCACov   | 0.88         | 97.30 | 0.95         | 98.87 | 0.81         | 95.58 | 0.46         | 81.01 |
| PCACor   | 0.74         | 93.56 | 0.67         | 90.94 | 0.82         | 95.85 | 0.43         | 79.16 |
| SACov    | 0.74         | 93.54 | 0.66         | 90.82 | 0.82         | 95.81 | 0.36         | 73.39 |
| SACor    | 0.46         | 80.94 | 0.20         | 55.27 | 0.79         | 94.92 | 0.37         | 74.23 |

Notes: \*Analysis of variance (ANOVA); principal components analysis based on the residual variance and covariance matrix (PCACov); principal components analysis based on the correlation matrix (PCACor); structural analysis based on the covariance matrix (SACov) and structural analysis based on the correlation matrix (SACor).

**Table 4.** Minimum number of measurements required by different analysis methods to identify superior hybrids for leaf dry matter (LDM); stem dry matter (SDM); leaf:stem ratio (LSR); inflorescence dry matter (IDM); total dry matter (TDM); tiller population density per plant (TPD); plant height (PH) and growth habit (GH) in 195 hybrids of *Paspalum notatum* Flügge.

| LDM            |         |          |        |        |     | SDM            |         |          |        |        |     |
|----------------|---------|----------|--------|--------|-----|----------------|---------|----------|--------|--------|-----|
| R <sup>2</sup> | ANOVA I | ANOVA II | PCACov | PCACor | SA  | R <sup>2</sup> | ANOVA I | ANOVA II | PCACov | PCACor | SA  |
| 0.80           | 3       | 11       | 1      | 1      | 1   | 0.80           | 11      | 31       | 0      | 4      | 4   |
| 0.85           | 5       | 16       | 1      | 2      | 2   | 0.85           | 15      | 44       | 1      | 5      | 5   |
| 0.90           | 8       | 26       | 2      | 3      | 3   | 0.90           | 24      | 70       | 1      | 8      | 9   |
| 0.95           | 16      | 54       | 3      | 6      | 6   | 0.95           | 50      | 148      | 2      | 17     | 18  |
| 0.99           | 85      | 282      | 17     | 32     | 32  | 0.99           | 261     | 769      | 11     | 88     | 94  |
| LSR            |         |          |        |        |     | IDM            |         |          |        |        |     |
| R <sup>2</sup> | ANOVA I | ANOVA II | PCACov | PCACor | SA  | R <sup>2</sup> | ANOVA I | ANOVA II | PCACov | PCACor | SA  |
| 0.80           | 40      | 140      | 4      | 14     | 22  | 0.80           | 17      | 71       | 0      | 5      | 6   |
| 0.85           | 57      | 198      | 6      | 19     | 31  | 0.85           | 24      | 101      | 0      | 7      | 8   |
| 0.90           | 90      | 314      | 9      | 30     | 49  | 0.90           | 38      | 161      | 1      | 11     | 13  |
| 0.95           | 189     | 663      | 20     | 64     | 104 | 0.95           | 80      | 339      | 1      | 24     | 28  |
| 0.99           | 987     | 3453     | 102    | 335    | 541 | 0.99           | 418     | 1766     | 7      | 126    | 146 |

| R <sup>2</sup> | TDM     |          |        |        |    | R <sup>2</sup> | TPD     |          |        |        |     |
|----------------|---------|----------|--------|--------|----|----------------|---------|----------|--------|--------|-----|
|                | ANOVA I | ANOVA II | PCACov | PCACor | SA |                | ANOVA I | ANOVA II | PCACov | PCACor | SA  |
| 0.80           | 5       | 17       | 1      | 1      | 1  | 0.80           | 16      | 191      | 0      | 2      | 2   |
| 0.85           | 7       | 24       | 1      | 2      | 2  | 0.85           | 23      | 270      | 0      | 3      | 3   |
| 0.90           | 11      | 38       | 1      | 3      | 3  | 0.90           | 36      | 430      | 1      | 4      | 5   |
| 0.95           | 22      | 79       | 3      | 7      | 7  | 0.95           | 77      | 907      | 1      | 9      | 10  |
| 0.99           | 117     | 414      | 14     | 34     | 34 | 0.99           | 401     | 4725     | 6      | 49     | 50  |
| R <sup>2</sup> | PH      |          |        |        |    | R <sup>2</sup> | GH      |          |        |        |     |
|                | ANOVA I | ANOVA II | PCACov | PCACor | SA |                | ANOVA I | ANOVA II | PCACov | PCACor | SA  |
| 0.80           | 1       | 8        | 1      | 1      | 1  | 0.80           | 7       | 8        | 5      | 5      | 7   |
| 0.85           | 2       | 11       | 1      | 1      | 1  | 0.85           | 10      | 12       | 7      | 7      | 10  |
| 0.90           | 2       | 18       | 2      | 2      | 2  | 0.90           | 16      | 19       | 11     | 12     | 16  |
| 0.95           | 5       | 38       | 4      | 4      | 4  | 0.95           | 33      | 39       | 22     | 25     | 34  |
| 0.99           | 26      | 199      | 23     | 21     | 22 | 0.99           | 172     | 206      | 116    | 130    | 179 |

Notes: \*Analysis of variance (ANOVA); principal components analysis based on the residual variance and covariance matrix (PCACov); principal components analysis based on the correlation matrix (PCACor); structural analysis based on the covariance matrix (SACov) and structural analysis based on the correlation matrix (SACor).

Table 5. Coefficient of repeatability ( $\hat{\rho}$ ) and determination coefficients ( $R^2$ ) for comparisons of harvest times generated by ANOVA II and PCACor analysis methods to evaluate genotypic stability of leaf dry matter (LDM); stem dry matter (SDM); leaf:stem ratio (LSR); inflorescence dry matter (IDM); total dry matter (TDM); tiller population density per plant (TPD); plant height (PH) and growth habit (GH) in 195 hybrids of *Paspalum notatum* Flügge.

| Harvests | N | LDM          |       |              |       | SDM          |       |              |       |
|----------|---|--------------|-------|--------------|-------|--------------|-------|--------------|-------|
|          |   | ANOVA II     |       | PCACor       |       | ANOVA II     |       | PCACor       |       |
|          |   | $\hat{\rho}$ | $R^2$ | $\hat{\rho}$ | $R^2$ | $\hat{\rho}$ | $R^2$ | $\hat{\rho}$ | $R^2$ |
| 1-2      | 2 | 0.92         | 95.86 | 0.92         | 95.87 | 0.83         | 90.76 | 0.84         | 91.57 |
| 2-3      | 2 | 0.57         | 72.58 | 0.77         | 87.32 | 0.24         | 38.13 | 0.39         | 56.20 |
| 3-4      | 2 | 0.83         | 90.91 | 0.89         | 94.13 | 0.17         | 29.37 | 0.30         | 46.72 |
| 4-5      | 2 | 0.61         | 75.75 | 0.87         | 93.15 | 0.35         | 51.96 | 0.77         | 86.73 |
| 1-3      | 3 | 0.60         | 81.59 | 0.81         | 92.56 | 0.50         | 75.30 | 0.55         | 78.45 |
| 2-4      | 3 | 0.70         | 87.71 | 0.80         | 92.24 | 0.31         | 57.35 | 0.38         | 64.42 |
| 3-5      | 3 | 0.69         | 87.10 | 0.86         | 94.79 | 0.21         | 44.21 | 0.51         | 75.72 |
| 1-4      | 4 | 0.67         | 88.94 | 0.78         | 93.59 | 0.41         | 73.24 | 0.46         | 76.99 |
| 2-5      | 4 | 0.59         | 85.19 | 0.78         | 93.53 | 0.25         | 57.31 | 0.52         | 81.46 |
| 1-5      | 5 | 0.54         | 85.40 | 0.76         | 93.94 | 0.27         | 65.46 | 0.53         | 84.87 |
| <hr/>    |   |              |       |              |       |              |       |              |       |
| LSR      |   |              |       |              |       |              |       |              |       |
| Harvests | N | ANOVA II     |       | PCACor       |       | ANOVA II     |       | PCACor       |       |
|          |   | $\hat{\rho}$ | $R^2$ | $\hat{\rho}$ | $R^2$ | $\hat{\rho}$ | $R^2$ | $\hat{\rho}$ | $R^2$ |
|          |   | 0.37         | 53.96 | 0.39         | 55.61 | 0.65         | 78.67 | 0.76         | 86.10 |
| 1-2      | 2 | 0.00         | 0.79  | 0.01         | 1.50  | 0.12         | 21.43 | 0.20         | 33.02 |
| 2-3      | 2 | 0.28         | 43.68 | 0.30         | 45.99 | 0.11         | 19.01 | 0.16         | 28.22 |
| 3-4      | 2 | 0.03         | 5.77  | 0.03         | 6.32  | 0.25         | 39.48 | 0.63         | 77.33 |
| 1-3      | 3 | 0.00         | 0.13  | 0.20         | 42.89 | 0.37         | 63.84 | 0.42         | 68.72 |
| 2-4      | 3 | 0.14         | 32.73 | 0.15         | 34.90 | 0.23         | 47.22 | 0.25         | 49.61 |
| 3-5      | 3 | 0.13         | 30.88 | 0.15         | 34.67 | 0.14         | 32.62 | 0.36         | 62.99 |
| 1-4      | 4 | 0.09         | 27.34 | 0.14         | 39.73 | 0.30         | 63.16 | 0.35         | 67.86 |
| 2-5      | 4 | 0.12         | 34.73 | 0.22         | 52.45 | 0.20         | 50.05 | 0.42         | 74.46 |
| 1-5      | 5 | 0.09         | 33.40 | 0.23         | 59.67 | 0.19         | 54.22 | 0.44         | 79.75 |

|          |   | TDM          |                |              |                | TPD          |                |              |                |
|----------|---|--------------|----------------|--------------|----------------|--------------|----------------|--------------|----------------|
| Harvests | N | ANOVA II     |                | PCACor       |                | ANOVA II     |                | PCACor       |                |
|          |   | $\hat{\rho}$ | R <sup>2</sup> |
| 1-2      | 2 | 0.93         | 96.24          | 0.93         | 96.28          | 0.77         | 86.85          | 0.88         | 93.65          |
| 2-3      | 2 | 0.69         | 81.92          | 0.75         | 85.52          | 0.72         | 84.00          | 0.76         | 86.56          |
| 3-4      | 2 | 0.82         | 90.12          | 0.83         | 90.66          | 0.84         | 91.48          | 0.85         | 91.67          |
| 4-5      | 2 | 0.52         | 68.16          | 0.92         | 95.68          | 0.26         | 40.84          | 0.71         | 82.96          |
| 1-3      | 3 | 0.74         | 89.31          | 0.79         | 91.96          | 0.64         | 84.37          | 0.77         | 90.74          |
| 2-4      | 3 | 0.74         | 89.44          | 0.76         | 90.36          | 0.72         | 88.71          | 0.74         | 89.76          |
| 3-5      | 3 | 0.53         | 77.16          | 0.84         | 93.92          | 0.26         | 51.60          | 0.75         | 90.04          |
| 1-4      | 4 | 0.73         | 91.44          | 0.76         | 92.52          | 0.63         | 87.29          | 0.71         | 90.86          |
| 2-5      | 4 | 0.48         | 78.64          | 0.77         | 92.99          | 0.23         | 54.63          | 0.70         | 90.16          |
| 1-5      | 5 | 0.46         | 80.94          | 0.74         | 93.56          | 0.20         | 55.27          | 0.67         | 90.94          |
|          |   | PH           |                |              |                | GH           |                |              |                |
| Harvests | N | ANOVA II     |                | PCACor       |                | ANOVA II     |                | PCACor       |                |
|          |   | $\hat{\rho}$ | R <sup>2</sup> |
| 1-2      | 2 | 0.80         | 89.04          | 0.87         | 92.91          | 0.60         | 74.67          | 0.61         | 75.86          |
| 2-3      | 2 | 0.77         | 86.92          | 0.77         | 87.08          | 0.63         | 77.10          | 0.63         | 77.17          |
| 3-4      | 2 | 0.88         | 93.68          | 0.88         | 93.68          | 0.67         | 80.26          | 0.67         | 80.29          |
| 4-5      | 2 | 0.94         | 96.66          | 0.94         | 96.83          | 0.02         | 3.18           | 0.02         | 3.20           |
| 1-3      | 3 | 0.75         | 90.09          | 0.79         | 91.85          | 0.59         | 81.27          | 0.60         | 81.95          |
| 2-4      | 3 | 0.79         | 91.85          | 0.79         | 91.87          | 0.61         | 82.64          | 0.61         | 82.70          |
| 3-5      | 3 | 0.92         | 97.19          | 0.92         | 97.30          | 0.25         | 49.52          | 0.34         | 60.24          |
| 1-4      | 4 | 0.75         | 92.35          | 0.78         | 93.41          | 0.56         | 83.76          | 0.57         | 84.40          |
| 2-5      | 4 | 0.85         | 95.74          | 0.85         | 95.83          | 0.33         | 65.94          | 0.41         | 73.53          |
| 1-5      | 5 | 0.79         | 94.92          | 0.82         | 95.85          | 0.37         | 74.23          | 0.43         | 79.16          |

## 9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente pesquisa se propôs a investigar a variabilidade genética de diferentes populações em *Paspalum* para caracteres de produção de forragem, rendimento de sementes e qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes, com o objetivo de implementar técnicas biométricas baseadas em dados fenotípicos. As conclusões deste estudo confirmaram nossas hipóteses e demonstraram a importância dessas abordagens no melhoramento de plantas, especificamente em programas de melhoramento de espécies do gênero *Paspalum*.

Cabe ressaltar que a presença de variabilidade genética na produção de forragem e a alta herdabilidade genotípica média para o caráter altura da planta sugerem que a seleção direta com base nesse caractere poderia aumentar a produção de forragem. Recomenda-se a realização de duas a quatro colheitas para seleção confiável em híbridos de *P. notatum* com base em caracteres como massa seca de folhas e produção total de matéria seca. A análise de componentes principais mostrou ser o método mais apropriado para seleção precoce de híbridos superiores através da análise de repetibilidade.

A seleção precoce de ecótipos superiores em *P. lepton* pode ser mais eficaz com base na massa seca das folhas para aprimorar a produtividade da espécie. Recomendamos a realização de dois a dez cortes para seleção confiável com base em caracteres forrageiros. No entanto, caracteres como a produção de matéria seca demonstraram alta repetibilidade, indicando que dois cortes são suficientes para uma seleção precoce com no mínimo 80% de certeza. Os ecótipos L3.17 e L3.01 mostraram desempenho forrageiro promissor. O número de sementes por inflorescência e o número de sementes por racemos apresentam correlações moderadas com o rendimento de sementes puras, destacando a importância dessas características na seleção de ecótipos superiores. A incidência de *Claviceps paspali* afeta negativamente a qualidade fisiológica de sementes. Características relacionadas ao rendimento de sementes têm menor repetibilidade em comparação com as associadas à qualidade fisiológica, destacando a importância dessas informações em programas de melhoramento genético. Por fim, os ecótipos L3.18 e L3.22 apresentaram desempenho superior em termos de rendimento de sementes, enquanto os ecótipos L5.19, L3.02, L3.04, L2.07, L2.17, L2.16, L2.06, L2.10, L8.04,

L3.08, L1.16, L4.09, L1.06 e L6.05 demonstraram desempenho superior em relação à qualidade fisiológica das sementes.

Através da análise multivariada, estimativas de parâmetros genéticos, análises de correlação genética, canônica e análises de trilha, identificamos caracteres e ecótipos promissores que podem ser incorporados em futuros cruzamentos e híbridos superiores que podem seguir nas próximas etapas do programa de melhoramento genético. A seleção com base em caracteres como produção de forragem, rendimento e qualidade de sementes demonstrou ser eficaz, e a seleção precoce com base em características específicas foi recomendada em diferentes cenários. Além disso, a análise de componentes principais com base na matriz de correlação se destacou como uma ferramenta útil na identificação de ecótipos superiores para seleção precoce.

Esses resultados indicam que a variabilidade genética em *Paspalum* é uma realidade para a maioria dos caracteres estudados, e que as técnicas biométricas desempenham um papel crucial no aumento dos ganhos genéticos. Portanto, este estudo contribui significativamente para o programa de melhoramento de *Paspalum* conduzido na UFRGS, fornecendo *insights* valiosos para a seleção de genótipos superiores em relação ao rendimento de forragem, rendimento e qualidade de sementes. O uso de técnicas biométricas e análises multivariadas se mostrou essencial para alcançar esses objetivos.

## 10. REFERÊNCIAS

- ABEWARDENA, V. An application of principal component analysis in genetics. **Journal of Genetics**, London, v. 61, n. 1, p. 27-51, 1972.
- ABREU, H. K. A. et al. Genetic parameters, correlations and path analysis in upland rice genotypes. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 32, n. 2, p. 354-360, 2016.
- ABREU, V. M. N. et al. Capacidade de combinação de características de produção de ovos de linhagens de matrizes de frango de corte, usando análise de componentes principais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 28, n. 5, p. 955-959, 1999.
- ACUÑA, C. A. et al. Reproductive characterization of bahiagrass germplasm. **Crop Science**, Madison, v. 47, n. 4, p. 1711-1717, 2007.
- ACUÑA, C. A. et al. Reproductive systems in *Paspalum*: relevance for germplasm collection and conservation, breeding techniques, and adoption of released cultivars. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 10, [art.] 1377, [p. 1-17], 2019.
- AGUILERA, P. M. et al. Interspecific tetraploid hybrids between two forage grass species: sexual *Paspalum plicatulum* and apomictic *P. guenoiarum*. **Crop Science**, Madison, v. 51, n. 4, p. 1544-1550, 2011.
- AJMAL, S. U.; ZAKIR, N.; MUJAHID, M. Y. Estimation of genetic parameters and character association in wheat. **Journal of Agricultural & Biological Science**, Islamabad, v. 1, n. 1, p. 15-18, 2009.
- AKAOGU, I.C. et al. Genetic diversity and inter-trait relationships among maize inbreds containing genes from *Zea diploperennis* and hybrid performance under contrasting environments. **Agronomy**, Basel, v. 10, n. 10, [art.] 1478, [p. 1-25], 2020.
- AKINWALE, M. G. et al. Heritability and correlation coefficient analysis for yield and its components in rice (*Oryza sativa* L.). **African Journal of Plant Science**, Lagos, v. 5, n. 3, p. 207-212, 2011.
- ALLARD, R. W. **Principles of plant breeding**. New York: John Wiley 1960. 485 p.
- ALLARD, R. W. Principles of plant breeding. **Soil Science**, New Brunswick, v. 91, n. 6, p. 414, 1961.
- ALLARD, R. W.; HANSCHE, P. E. Some parameters of population variability and their implications in plant breeding. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 16, p. 281-325, 1964.
- ANDRADE, B. O. et al. 12,500+ and counting: biodiversity of the Brazilian Pampa. **Frontiers of Biogeography**, Lausanne, v. 15, n. 2, [art.] e59288, [p. 1-14], 2023.

ARALDI, D. F. et al. Management of defoliation in *Trifolium vesiculosum* S. for the production of seeds. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 73, p. 975-983, 2021.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNES – ABIEC. **Perfil da Pecuária no Brasil**. São Paulo, 2020. Disponível em: [https://www.abiec.com.br/wp-content/uploads/Beef-Report-2022\\_atualizado\\_jun2022.pdf](https://www.abiec.com.br/wp-content/uploads/Beef-Report-2022_atualizado_jun2022.pdf). Acesso em: 23 mar. 2023.

AZEVEDO, A. M. et al. Desempenho agronômico e parâmetros genéticos em genótipos de batata-doce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 33, n. 1, p. 84-90, 2015.

BAKER, J. F. et al. Multiple regression and principal components analysis of puberty and growth in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, n. 9, p. 2147-2158, 1988.

BARBIERI, R. L.; CASTRO, C. M. Descritores para caracterização de germoplasma. In: VEIGA, R. F. A.; QUEIRÓZ, M. A. **Recursos fitogenéticos**: a base da agricultura sustentável. Viçosa, MG: UFV, 2015. p. 184-191.

BARBOSA, L. et al. Avaliação de características de qualidade da carne de suínos por meio de componentes principais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 35, n. 4, p. 1639-1645, 2006.

BARBOSA, M. H. P. et al. Genetic improvement of sugar cane for bioenergy: the Brazilian experience in network research with RIDESA. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 12, p. 87-98, 2012. Número especial.

BARBOSA, M. R. et al. Herbage accumulation of bahiagrass hybrids in two different environments in southern Brazil. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 25, p. 58-69, 2019.

BARDIN, D. **Componentes de variância**: teoria e aplicações. Piracicaba: FEALQ, 1993.

BARRETO, I. L. **O gênero Paspalum (Gramineae) no Rio Grande do Sul**. 1974. 258 f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1974.

BARROS, H. B. et al. Stability and adaptability analyses in soy (*Glycine max* L.) in Mato Grosso states. **Ambiência**, Guarapuava, v. 6, n. 1, p. 75-88, 2010.

BASHAW, E. C.; HOVIN, A. W.; HOLT, E. C. Apomixis, its evolutionary significance and utilization in plant breeding. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 11., 1970, Surfers Paradise, Queensland, Australia. **Proceedings of the [...]**. St. Lucia: [s. n.], 1970. p. 245-247.

BATISTA, L. A. R.; GODOY, R. Caracterização preliminar e seleção de germoplasma do gênero *Paspalum* para produção de forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 29, n. 1, p. 23-32, 2000.

BEAUMONT, M. A. et al. Measuring genetic distance. In: KARP, A.; INGRAM, D. S.; ISAAC, P. G. (ed.). **Molecular tools for screening biodiversity: plants and animals**. London: Chapman and Hall, 1998. p. 315-325.

BENDE, T. S. et al. Path analysis studies of yield and yield components in brinjal (*Solanum melongena* L.). **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, New Delhi, v. 8, n. 3, p. 318-320, 2019.

BENIN, G. et al. Estimativas de correlações genotípicas e de ambiente em gerações com elevada frequência de heterozigotos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 523-529, 2005.

BENIN, G. et al. Número ótimo de ensaios de competição de trigo em diferentes regiões de adaptação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 2, p. 247-252, 2014.

BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. Woodbury: Stemma, 2002. 368 p.

BERNARDO, R. Reinventing quantitative genetics for plant breeding: something old, something new, something borrowed, something BLUE. **Heredity**, London, v. 125, n. 6, p. 375-385, 2020.

BERTONCELLI, P. **Produção e germinação de sementes de *Paspalum notatum*: resposta a fertilização nitrogenada e manejo de cortes**. 2018. 71 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

BIANCO, C. L. et al. Identification of F1 hybrids of artichoke by ISSR markers and morphological analysis. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 27, n. 2, p. 157-170, 2011.

BLOUNT, A. R.; ACUÑA, C. A. Bahiagrass. In: SINGH, R. J. (ed.). **Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement series: forage crops**. Boca Raton: CRC Press, 2009. v. 5, p. 81–101.

BOLDRINI, I. I. Biodiversidade dos campos sulinos. In: DALL'AGNOL, M. et al. (ed.). **Anais do I Simpósio de Forrageiras e Produção Animal**. Porto Alegre: UFRGS, Faculdade de Agronomia, 2006. p. 11-24.

BOLDRINI, I. I. *Paspalum lepton*. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. (ed.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2011. cap. 5, p. 334-335.

BONOMO, P. et al. Seleção antecipada de progêneres de café descendentes de “híbrido de timor” X “catuaí amarelo” e “catuaí vermelho. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 26, n. 1, p. 91-96, 2004.

BOONMAN, J. G. Experimental studies on seed production of tropical grasses in Kenya. 1 General introduction and analysis of problems. **Netherlands Journal Agricultural Science**, Wageningen, v. 19, n. 1, p. 23-36, 1971.

BOREM, A.; MIRANDA, G. V.; FRITSCHE-NETO, R. **Melhoramento de plantas**. 7. ed. Viçosa, MG: UFV, 2017. v. 1. 543 p.

BORGES, V. et al. Seleção de clones de batata-doce pelo procedimento REML/BLUP. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 4, p. 643-649, 2010.

BOTREL, M. A. et al. Estimativas de coeficientes de repetibilidade para produção de matéria seca em cultivar de alfafa, sob diferentes ambientes. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 47, p. 651-663, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Sanidade Vegetal e Insumos Agrícolas. Coordenação do Serviço Nacional de Proteção de Cultivares. Ato nº 13, de 12 de agosto de 2020. Instruções para execução dos ensaios de Distinguibilidade, Homogeneidade e Estabilidade de cultivares de *Paspalum* das espécies *Paspalum guenoarum* Arechav., *Paspalum notatum* Flüggé, *Paspalum plicatulum* Michx. e híbridos. Diário Oficial da União: Seção 1, Brasília, DF, n. 155, p. 6, 13 ago. 2020. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/ato-n-13-de-12-de-agosto-de-2020-271968280>. Acesso em: 19 jun. 2021

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da Mata Atlântica e Campos Sulinos**. Brasília, DF: MMA, 2000. 40 p.

BURLE, M. B.; OLIVEIRA, M. S. P. **Manual de curadores de germoplasma**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010.

BURSON, B. L.; BENNETT, H. W. Chromosome numbers, microsporogenesis, and mode of reproduction of seven *Paspalum* species. **Crop Science**, Madison, v. 11, n. 2, p. 292-294, 1971.

BURSON, B. L.; BENNETT, H. W. Cytology, method of reproduction, and fertility of bruswickgrass, *Paspalum nicrae* Parodi. **Crop Science**, Madison, v. 10, n. 2, p. 184-187, 1970.

BURTON, G. W. Breeding Pensacola bahiagrass, *Paspalum notatum*: I. Method of reproduction. **Agronomy Journal**, Madison, v. 47, n. 7, p. 311-314, 1955.

BUZAR, A. G. R.; OLIVEIRA, V. R.; BOITEUX, L. S. Estimativa da diversidade genética de germoplasma de cebola via descritores morfológicos, agronômicos e bioquímicos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, p. 527-532, 2007.

- CAIERÃO, E. et al. Seleção indireta em aveia para o incremento no rendimento de grãos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 2, p. 231-236, 2001.
- CÂMARA, T. M. M. et al. Parâmetros genéticos de caracteres relacionados à tolerância à deficiência hídrica em milho tropical. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 4, p. 595-603, 2007.
- CAMÉLO, L. C. A. et al. Caracterização morfológica e agronômica de acessos de erva-cidreira-brasileira [*Lippia alba* (Mill.) NE Br.]. **Scientia Plena**, Aracajú, v. 7, n. 5, [art.] 050201, [p. 1-8], 2011.
- CAMPANA, A. C. M.; RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; NASCIMENTO, M. Uma proposta de transformação de dados para Análise de Componentes Principais. **Revista Brasileira de Biometria**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 103-115, 2010.
- CANTO-DOROW, T. S. Revisão taxonômica das espécies de *Paspalum* grupo Notata (Poaceae-Paniceae) do Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia**, Porto Alegre, v. 47, p. 3-44, 1996.
- CAPONIO, I.; QUARIN, C. L. Intra-and interspecific hybridization between dallisgrass and vaseygrass. **Crop Science**, Madison, v. 30, n. 2, p. 362-364, 1990.
- CARDOSO, A. I. I. Número mínimo de colheitas em pepino híbrido estimado por meio do coeficiente de repetibilidade. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n. 4, p. 591-595, 2006.
- CARGNELUTTI FILHO, A. et al. Análise de repetibilidade de caracteres forrageiros de genótipos de *Panicum maximum*, avaliados com e sem restrição solar. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 723-729, 2004.
- CARPENTIERI-PÍPOLO, V.; GASTALDI, L. F.; PIPOLO, A. E. Correlações fenotípicas entre caracteres quantitativos em soja. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 11-16, 2005.
- CARVALHO, F. I. F. et al. **Estimativas e implicações da herdabilidade como estratégia de seleção**. Pelotas: UFPEL, 2001. 98 p.
- CARVALHO, F. I. F.; LORENCETTI, C.; BENIN, G. **Estimativas e implicações da correlação no melhoramento genético**. Pelotas: UFPel, 2004. 142 p.
- CASLER, M. D. VOGEL, K. P. Forage breeding. In: MOORE, K. J. et al. (ed.). **Forages: the science of grassland agriculture**. 7th ed. Hoboken: John Wiley, 2020. p. 553-566.
- CHAMBLISS, C. G.; SOLLENBERGER, L. E. Bahiagrass: the foundation of cow-calf nutrition in Florida. In: ANNUAL BEEF CATTLE SHORT COURSE, 40., 1991, Gainesville, Florida. **Proceedings of the [...]**. Gainesville: University of Florida, 1991. p. 74-80.

CHASE, A. The North American species of *Paspalum*. **Contributions from the United States National Herbarium**, Washington, DC, v. 28, p. 1-310, 1929.

CHATFIELD, C.; COLLINS, A.J. **Introduction to multivariate analysis**. 3rd ed. London: Science Paperbacks, Chapman and Hall, 1986. 246 p.

CHATFIELD, C.; COLLINS, A.J. **Introduction to multivariate analysis**. New York: Springer, 1980.

CHAVES, G. G. et al. Tamanho de parcela e número de repetições para avaliação de caracteres vegetativos em centeio. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 13, n. 3, p. 1-11, 2018.

CHRIGUI, N. et al. Introgression of resistance to leafminer (*Liriomyza cicerina* Rondani) from *Cicer reticulatum* Ladiz. to *C. arietinum* L. and relationships between potential biochemical selection criteria. **Agronomy**, Basel, v. 11, n. 1, [art.] 57, [p. 1-14], 2021.

CIDADE, F. W. et al. Genetic diversity of the complex *Paspalum notatum* Flügge (Paniceae: Panicoideae). **Genetic Resources and Crop Evolution**, Amsterdam, v. 55, n. 2, p. 235-246, 2008.

CIDADE, F. W. et al. Genetic variation in polyploid forage grass: assessing the molecular genetic variability in the *Paspalum* genus. **BMC Genetics**, London, v. 14, n. 1, p. 1-19, 2013.

CIDADE, F. W. et al. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Paspalum notatum* Flüggé (Poaceae). **Conservation Genetics**, Dordrecht, v. 10, n. 6, p. 1977-1980, 2009.

CIDADE, F. W. et al. Microsatellite loci for *Paspalum atratum* (Poaceae) and cross-amplification in other species. **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 97, n. 11, p. e107-e110, 2010.

COCKERHAM, C. C. Effects of linkage on the covariances between relatives. **Genetics**, Baltimore, v. 41, p. 138-141, 1956.

COHEN, J. I.; ALCORN, J. B.; POTTER, C. S. Utilization and conservation of genetic resources: International projects for sustainable agriculture. **Economic Botany**, Bronx, v. 45, n. 2, p. 190-199, 1991.

COIMBRA, J. L. M. et al. Análise de trilha I: análise do rendimento de grãos e seus componentes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 2, p. 213-218, 1999.

COLE-RODGERS, P.; SMITH, D. W.; BOSLAND, P. W. A novel statistical approach to analyze genetic resource evaluations using capsicum as an example. **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 3, p. 1000-1002, 1997.

COMSTOCK, R. E.; ROBINSON, H. F. The components of genetic variance in populations of biparental progenies and their use in estimating the average degree of dominance. **Biometrics**, Alexandria, VA, v. 4, n. 4, p. 254-266, 1948.

CONCI, A.; AZEVEDO, E.; LETA, F. R. **Computação gráfica: teoria e prática**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. v. 2.

COOK, B. G. et al. **Tropical Forages**: an interactive selection tool. 2nd rev. ed.). Cali: International Center for Tropical Agriculture (CIAT); Nairobi: International Livestock Research Institute (ILRI), 2020.

CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. (org.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro? região sul**. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2011. v. 1, p. 478-493.

CORNACCHIA, G. et al. Estimativas do coeficiente de repetibilidade para características fenotípicas de procedências de *Pinus tecunumanii* (Schw.) EGUILUZ, PERRY e *Pinus caribaea* var. *hondurensis* Barret, Golfari. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 19, n. 3, p. 333-345, 1995.

CORRÊA, T. R. et al. Estimation of genetic parameters for in vitro oil palm characteristics (*Elaeis guineensis* Jacq.) and selection of genotypes for cloning capacity and oil yield. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 77, p. 1033-1038, 2015.

CREVELARI, J. A. et al. Correlations between agronomic traits and path analysis for silage production in maize hybrids. **Bragantia**, Campinas, v. 77, n. 2, p. 243-252, 2018.

CREVELARI, J. A. et al. Phenotypic correlations and path analysis between morphoagronomic and bromatological traits in corn hybrids for silage production. **Australian Journal of Crop Science**, Brisbane, v. 14, n. 12, p. 1905–1912, 2020.

CRUZ, C. D. **Princípios de genética quantitativa**. Viçosa: UFV, 2005. 394 p.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2003. v. 2. 585 p.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2014. v. 2. 668 p.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. 2. ed. Visconde de Rio Branco, MG: Suprema Gráfica Editora, 2020. v. 1. 620 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. rev. Viçosa, MG: UFV, 1997. 390 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa, MG: UFV, 1994. 390 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa, MG: UFV, 2012. 514 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2004. v. 1. 480 p.

CRUZ, C. D.; VENCOVSKY, R.; CARVALHO, S. P. Estudo sobre divergência genética. III. Comparação de técnicas multivariadas. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 41, p. 191-201, 1994.

CUSTÓDIO, F. A. et al. *Atripes paspali* gen. et sp. nov. (Magnaporthaceae) causing take-all disease on *Paspalum guenoiarum* in Brazil. **Plant Pathology**, Oxford, v. 70, n. 1, p. 110-122, 2021.

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

DALL'AGNOL, M. et al. Perspectivas de lançamento de cultivares de espécies forrageiras nativas: o gênero *Paspalum*. In: DALL'AGNOL, M. et al. (ed.). **Anais do I Simpósio de Forrageiras e Produção Animal**. Porto Alegre: UFRGS. Faculdade de Agronomia, 2006. v. 1. p. 149-162.

DE WET, J. M. et al. Diversity in kodo millet, *Paspalum scrobiculatum*. **Economic Botany**, Bronx, v. 37, n. 2, p. 159-163, 1983.

DENHAM, S. S. Revisión sistemática del subgénero Harpostachys de *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Saint Louis, v. 92, p. 463-532, 2005.

DENHAM, S. S.; ZULOAGA, F. O.; MORRONE, O. Systematic revision and phylogeny of *Paspalum* subgenus Ceresia (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Saint Louis, v. 89, n. 3, p. 337-399, 2002.

DEWEY, D. R.; LU, K. H. A correlation and path coefficient analysis of components of crested wheatgrass seed production. **Agronomy Journal**, Madison, v. 51, p. 515-518, 1959.

DIAS, L. D. S.; KAGEYAMA, P. Y.; CASTRO, G. C. T. Divergência genética multivariada na preservação de germoplasma de cacau (*Theobroma cacao* L.). **Agrotrópica**, Itabuna, v. 9, n. 1, p. 29-40, 1997.

DUNCAN, R. R.; CARRON, R. N. **Seashore paspalum**: the environmental turfgrass. Hoboken: John Wiley, 2000.

DUVICK, D. N. Genetic diversity in major farm crops on the farm and in reserve. **Economic Botany**, Bronx, v. 38, n. 2, p. 161-178, 1984.

EBONE, L. A. et al. Biochemical profile of the soybean seed embryonic axis and its changes during accelerated aging. **Biology**, Basel, v. 9, n. 8, [art.] 186, [p. 1-17], 2020.

ENTRINGER, G. C. et al. Correlação e análise de trilha para componentes de produção de milho superdoce. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 61, n. 3, p. 356-361, 2014.

EVERITT, B. S. **Cluster analysis**. Cambridge: Edward Arnold, University Press, 1993. 170 p.

EVERS, G.W.; BURSON, B. L. Dallisgrass and other *Paspalum* species. In: MOSER, L. E.; BURSON, B. L.; SOLLENBERGER, L. E. (ed.). **Warm-season (C4) grasses**. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 2004. (Agronomy Monograph, 45). p. 681–713.

FACHINETTO, J. et al. Genetic similarity among accessions of *Paspalum notatum* Flügge (Poaceae): a potential to parental selection. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 64, [art.] e21190007, [p. 1-7], 2021.

FACHINETTO, J. M. et al. New wild diploids in *Paspalum notatum* Flügge (Poaceae): potential accessions for use in breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 18, p. 432-436, 2018.

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

FACHINETTO, J. M. et al. Genetic diversity of a *Paspalum notatum* Flügge germplasm collection. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 46, n. 9, p. 714-721, 2017.

FALCONER, D. S. **Introduction to quantitative genetics**. 3rd ed. New York: Longman Scientific and Technical, 1989. 438 p.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. Heritability and repeatability discussion: sugarcane breeders. **International Society of Sugar Cane Technology**, [s. l.], v. 18, p. 15-17, 1966.

FALCONER, D.S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. 4th ed. Harlow: Pearson, 1996. 464 p.

FALUBA, J. S. et al. Potencial genético da população de milho UFV 7 para o melhoramento em Minas Gerais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, p. 1250-1256, 2010.

FARIA, A. P. et al. Ganho genético na cultura da soja. **Semina: Ciencias Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 1, p. 71-78, 2007.

FARIAS NETO, J. T. D.; RESENDE, M. D. V. D. Aplicação da metodologia de modelos mistos (REML/BLUP) na estimativa de componentes de variância e

predição de valores genéticos em pupunheira (*Bactris gasipaes*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 320-324, 2001.

FARIAS NETO, J. T. et al. Variabilidade genética em progênies jovens de açaizeiro. **Cerne**, Lavras, v. 11, n. 4, p. 336-341, 2005.

FEHR, W. R. **Principles of cultivar development**. New York: Macmillan Publishing Company, 1987. 536 p.

FEITOSA, O. S. et al. Forage performance and cattle production as a function of the seasonality of a Brazilian tropical region. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 44, [art.] e53779, [p. 1-11], 2022.

FERREIRA, A. et al. Repetibilidade e número de colheitas para seleção de clones de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 40, n. 8, p. 761-767, 2005.

FERREIRA, R. P. et al. Determinação do coeficiente de repetibilidade e estabilização genotípica das características agronômicas avaliadas em genótipos de alfafa no ano de estabelecimento. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 57, n. 5, p. 642-647, 2010.

FERREIRA, R. T. et al. *Toona ciliata* genotype selection with the use of individual BLUP with repeated measures. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 69, n. 3, p. 210-216, 2012.

FISHER, D. S. The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance. **Review Society Transation**, Edinburgh, v. 52, p. 399-433, 1918.

FISHER, R. A. The correlation between relatives on the supposition of mendelian inheritance. In: HILL, W. O. (ed.). **Quantitative genetics**. Part I. Explanation and analysis of continuous variation. New York: Van Nostrand Reinhold, 1984. p. 58-92.

FISHER, R. A. The Use of multiple measurements in taxonomic problems. **Annals of Eugenics**, London, v. 7, p. 179-88, 1936.

FLORES, M. D. S. et al. Relationship between vegetation indices and agronomic performance of maize varieties under different nitrogen rates. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 36, n. 5, p. 1638-1644, 2020.

FONSECA, A. F. A. D. et al. Divergência genética em café conilon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 41, n. 4, p. 599-605, 2006.

FRANKE, L. B.; NABINGER, C. Componentes do rendimento de sementes de cinco cultivares de trevo-branco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 26, n. 9, p. 1431-1445, 1991.

FURTADO, M. R. et al. Análise de trilha do rendimento do feijoeiro e seus componentes primários em monocultivo e em consórcio com a cultura do milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 217-220, 2002.

GASPARETTO, B. F. *et al.* Fungi associated with *Paspalum guenoarum* seeds: Their impact on physiology and control. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 51, [art.] e20200497, [p. 1-10], 2021.

GATES, R. N.; MISLEVY, P.; MARTIN, F. G. Herbage accumulation of three bahiagrass populations during the cool season. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, n. 1, p. 112–117, 2001.

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. (Agronomy Monograph, v. 45). p. 651-680.

GAYA, L. G.; MOURAO, G. S.; FERRAZ, J. B. S. Aspectos genético-quantitativos de características de desempenho, carcaça e composição corporal em frangos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 709-716, 2006.

GHADERI, A.; ADAMS, M. W.; NASSIB, A. M. Relationship between genetic distance and heterosis for yield and morphological traits in dry edible bean and faba bean. **Crop Science**, Madison, v. 24, n. 1, p. 37-42, 1984.

GHELLAR JUNIOR, I. *et al.* Forage yield of tetraploid bahiagrass hybrids. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 28, n. 1, p. 94-110, 2022.

GOLDENBERG, J. B. El empleo de la correlación en el mejoramiento genético de las plantas. **Fitotecnia Latinoamericana**, Caracas, v. 5, n. 2, p. 1-8, 1968.

GONÇALVES, G. M. *et al.* Correlações fenotípicas e genético-aditivas em maracujá-amarelo pelo delineamento I. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, p. 1413-1418, 2008.

GONÇALVES, L. S. A. *et al.* Heirloom tomato gene bank: assessing genetic divergence based on morphological, agronomic and molecular data using a Ward-modified location model. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 8, n. 1, p. 364-374, 2009.

GONZALEZ, Y.; PEREZ, A.; MATIAS, C. Problemática de la producción de semillas en los pastos tropicales: segunda parte. **Pastos y Forrajes**, Matanzas, v. 11, n. 2, p. 105–127, 1988.

GOWER, J. C. A general coefficient of similarity and some of its properties. **Biometrics**, Alexandria, VA, v. 27, n. 4, p. 857-871, 1971.

GRAMINHO, L. A. *et al.* Nitrogen use efficiency and forage production in intraspecific hybrids of *Paspalum notatum* Flüggé. **Chilean Journal of Agricultural Research**, Chillán, v. 79, n. 3, p. 447-455, 2019.

GRAVOIS, K. A.; HELMS, R. S. Path analysis of rice yield and yield components as affected by seeding rate. **Agronomy Journal**, Madison, v. 84, n. 1, p. 1-4, 1992.

GUARDA, V. D. A.; GUARDA, R. D. A. Brazilian tropical grassland ecosystems: distribution and research advances. **American Journal of Plant Sciences**, Irvine, v. 2014, p. 924-932, 2014.

GUIDOTI, D. T. et al. Interrelationship between morphological, agronomic and molecular characteristics in the analysis of common bean genetic diversity. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 40, [art.] e33032, [p. 1-9], 2018.

GUIMARÃES, P. S. et al. Correlação da heterose de híbridos de milho com divergência genética entre linhagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 42, n. 6, p. 811-816, 2007.

HACKER, J. B. et al. **An evaluation of a collection of *Paspalum* species as pasture plants for southeast Queensland**. St Lucia: CSIRO Tropical Agriculture, 1999. (Genetic resources communication, 32).

HAIR J. R. J. F. et al. **Análise multivariada de dados**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2005. 593 p.

HALLAUER, A. R.; CARENA, M. J.; MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 3rd ed. New York: Springer, 2010. 663 p.

HANNACHI, A. et al. Correlation, path analysis and stepwise regression in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) under rainfed conditions. **Journal of Agriculture and Sustainability**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 122-131, 2013.

HARE, M. D. et al. Effect of cutting on yield and quality of *Paspalum atratum* in Thailand. **Tropical Grasslands**, Cali, v. 35, n. 1, p. 144-150, 2001.

HENDERSON, C. R. Best linear unbiased estimation and prediction under a selection model. **Biometrics**, Alexandria, VA, v. 31, n. 2, p. 423-447, 1975.

HENDERSON, C. R. Estimation of changes in herd environment. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 32, p. 709, 1949.

HENDERSON, C. R. Sire evaluation and genetic trends. In: ANIMAL BREEDING AND GENETICS SYMPOSIUM IN HONOR OF J. LUSH, 1973, Champaign. **Proceedings**. Champaign: America Society of Animal Science, 1973. p. 10-41.

HERNÁNDEZ-VILLAREAL, A. E. Caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. **Revista Bio Ciencias**, Tepic v. 2, n. 3, p. 113-118, 2013.

HILL, T. A. et al. Characterization of *Capsicum annuum* genetic diversity and population structure based on parallel polymorphism discovery with a 30K unigene Pepper GeneChip. **PLoS One**, San Francisco, v. 8, n. 2, p. 1-16, 2013.

HOJSGAARD, D. et al. Sexuality, apomixis, ploidy levels, and genomic relationships among four *Paspalum* species of the subgenus Anachyris (Poaceae). **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, Jena, v. 203, n. 7, p. 535-547, 2008.

HOJSGAARD, D. et al. Taxonomy and biogeography of apomixis in Angiosperms and associated biodiversity characteristics. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca raton, v. 33, n. 5, p. 414-427, 2014.

HONGYU, K.; SANDANIELO, V. L. M.; OLIVEIRA JUNIOR, G. J. Análise de componentes principais: resumo teórico, aplicação e interpretação. **E&S Engineering and Science**, Cuiabá, v. 5, n. 1, p. 83-90, 2016.

HOOGERHEIDE, E. S. S. et al. Correlações e análise de trilha de caracteres tecnológicos e a produtividade de fibra de algodão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 42, n. 10, p. 1401-1405, 2007.

HOPKINSON, J. E. et al. Reproductive physiology, seed production and seed quality of *Brachiaria*. In: MILES, L. E.; MAAS, B. L.; VALLE, C. B. **Brachiaria: biology, agronomy and improvement**. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIA, 1996. p. 124-140.

HOTELLING, H. Analisys of a complex of statistical variables into principal components. **Journal of Educational Psychology**, Memphis, v. 24, p.417-441, 1993.

HOTELLING, H. Simplified calculation of principal components. **Psychometrika**, New York, v.1, n. 1, p. 27-35, 1936.

HUBER, K. G. C. et al. Variabilidade agronômica e seleção de progêneres F1 de *Paspalum*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 11, n. 4, p. 374-380, 2016.

HUMPHREYS, L. R.; RIVEROS, F. **Tropical pasture seed production**. Rome: FAO, 1986. 203 p. (Paper, 8).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Censo Agropecuário 2017: resultados definitivos**. Rio de Janeiro: IBGE, 2019.

JACKSON, J. E. Principal components and factor analysis: part I—principal components. **Journal of Quality Technology**, Milwaukee, v. 12, n. 4, p. 201-213, Oct. 1981.

JACQUARD, A. Heritability: one word, three concepts. **Biometrics**, Alexandria, VA, v. 39, n. 2, p. 465-477, 1983.

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

JANK, L.; VALLE, C. B.; RESENDE, R. M. S. Breeding tropical forages. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 11, n. 1, p. 27-34, 2011.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. **Applied multivariate statistical analysis**. 3rd ed. Engle Wood Cliffs: Prentice-Hall, 1992.

JOLLIFFE, I. T. Principal component analysis and factor analysis. In: JOLLIFFE, I. T. **Principal component analysis**. New York: Springer, 1986. p. 115–128.

JUDZIEWICZ, E. J. Family 187: Poaceae (Gramineae). In: GORTS, A. R. A.; VAN RIJN, G. (ed.). **Flora of the Guianas**: series A, Phanerogams 8. Königstein: Koeltz Scientific Books, 1990. p. 1–727.

KAMPHORST, S. H. et al. Can genetic progress for drought tolerance in popcorn be achieved by indirect selection? **Agronomy**, Basel, v. 9, n. 12, [art.] 792, [p. 1-19], 2019.

KHAN, A.; KABIR, M. Y.; ALAM, M. M. Variability, correlation path analysis of yield and yield components of pointed gourd. **Journal of Agriculture & Rural Development**, Bangladesh, v. 7, n. 1, p. 93-98, 2009.

KNIGHT, W. E.; BENNETT, H. W. Preliminary report of the effect of photoperiod and temperature on the flowering and growth of several southern grasses. **Agronomy Journal**, Madison, v. 45, n. 6, p. 268-269, 1953.

KOLE, P. C.; CHAKRABORTY, N. R.; BHAT, J. S. Analysis of variability, correlation and path coefficients in induced mutants of aromatic non-basmati rice. **Tropical Agricultural Research and Extension**, Mapalana, v. 11, p. 60-64, 2008.

KRYCKI, K. C. et al. Hybrid progenies of bahiagrass: agronomic evaluation. **Scientia Agraria Paranaensis**, Acrelândia, v. 21, n.1, p. 99-105, 2022.

KRYCKI, K. C. et al. Reproductive analyses of intraspecific *Paspalum notatum* Flügge hybrids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 20, n. 1, [art.] e291620114, [p. 1-7], 2020.

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

KUREK, A. J. et al. Análise de trilha como critério de seleção indireta para rendimento de grãos em feijão. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 7, n. 1, p. 29-32, 2001.

KURONUMA, T.; ANDO, M.; WATANABE, H. Tipburn Incidence and Ca acquisition and distribution in lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.) cultivars under different Ca concentrations in nutrient solution. **Agronomy**, Basel, v. 10, n. 2, [art.] 216, [p. 1-9], 2020.

LAVIOLA, B. G. et al. Estimates of repeatability coefficients and selection gains in *Jatropha* indicate that higher cumulative genetic gains can be obtained by relaxing the degree of certainty in predicting the best families. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 51, p. 70-76, 2013.

LIBERATO, J. R.; VALE, F. X. R.; CRUZ, C. D. Técnicas estatísticas de análise multivariada e a necessidade do fitopatologista conhecê-las. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 24, p. 5-8, 1999.

LOPES, R. R. et al. Genetic parameters and predicted gains with selection of interspecific hybrids of *Paspalum* for seed production. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 18, n. 3, p. 284-291, 2018.

LOPES, R. R. et al. Genetic variability of the components of seed yield in interspecific hybrids of *Paspalum*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 46, p. 296-302, 2017.

LOPES, R. R.; FRANKE, L. B. Análise de trilha dos componentes do rendimento de sementes de trevo-branco. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 10, p. 1865-1869, 2009.

LOPES, R. R.; FRANKE, L. B. Correlação e análise do coeficiente de trilha dos componentes do rendimento de sementes de grama-forquilha. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 40, n. 5, p. 972-977, 2011a.

LOPES, R. R.; FRANKE, L. B. Produção de sementes de quatro ecótipos de *Paspalum* nativos do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 40, n. 1, p. 20-30, 2011b.

LÚCIO, A. D. C. et al. Relações entre os caracteres de maracujazeiro-azedo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 2, p. 225-232, 2013.

LUSH, J. L. **Animal breeding plans**. Ames: Iowa State University, 1937. 433 p.

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

MACHADO, J. M. et al. Productive potential of superior genotypes of *Paspalum notatum* Flügge in response to nitrogen fertilization. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 20, p. 1-13, 2019.

MACHADO, J. M. et al. Reproduction mode and apospory expressivity of selected hybrids of *Paspalum notatum* Flügge. **Journal of Plant Breeding and Crop Science**, Geneva, v. 13, n. 2, p. 58-63, 2021.

MAHALANOBIS, P. C. On the generalized distance in statistics. **Proceedings of the National Institute of Sciences of India**, New Delhi, v. 2, p. 49-55, 1936.

MALUF, W. R.; FERREIRA, P. E.; MIRANDA, J. E. C. Genetic divergence in tomatoes and its relationship with heterosis for yield in F1 hybrids. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 3, p. 453-460, 1983.

MANLY, B. F. J.; ALBERTO, J. A. N. **Métodos estatísticos multivariados**: uma introdução. Porto Alegre: Bookman, 2008. 254 p.

MANLY, B. F. J.; ALBERTO, J. A. N. **Multivariate statistical methods:** a primer. Boca Raton: Chapman and Hall, 2016.

MANSOUR, H.; NORDHEIM, E. V.; RULEDGE, J. J. Estimators of repeatability. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 60, p. 151-156, 1981.

MARTUSCELLO, J. A. et al. Repetibilidade de caracteres agronômicos em *Panicum maximum* Jacq. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, n. 6, p. 1975-1981, 2007.

MEKDAD, A. A. A. et al. Integrated application of K and Zn as an avenue to promote sugar beet yield, industrial sugar quality, and K-use efficiency in a salty semi-arid agro-ecosystem. **Agronomy**, Basel, v. 11, n. 4, [art.] 782, [p. 1-22], 2021.

MIRANDA, J. E. C.; CRUZ, C. D.; PEREIRA, A. S. Análise de trilha e divergência genética de cultivares e clones de batata doce. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 11, n. 4, p. 881-904, 1988.

MOHAMMADI, S. A.; PRASANNA, B. M. Analysis of genetic diversity in crop plants—salient statistical tools and considerations. **Crop Science**, Madison, v. 43, n. 4, p. 1235-1248, 2003.

MONTARDO, D. P. et al. Análise de trilha para rendimento de sementes em trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 32, n. 5, p. 1076-1082, 2003.

MORAES-FERNANDES, M. I. B. et al. Cytological and evolutionary relationships in Brazilian forms of *Paspalum* (Gramineae). **Caryologia**, London, v. 27, n. 4, p. 455-465, 1974.

MORAIS JÚNIOR, O. P. D. et al. Variabilidade genética durante quatro ciclos de seleção recorrente em arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 52, p. 1033-1041, 2017.

MORETO, A. L. et al. Estimação dos componentes da variância fenotípica em feijoeiro utilizando o método genealógico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, p. 1035-1042, 2007.

MORRISON, D. F. **Multivariate statistical methods**. 2nd ed. New York: McGraw, 1976.

MORRONE, O. et al. Phylogeny of the Paniceae (Poaceae: Panicoideae): integrating plastid DNA sequences and morphology into a new classification. **Cladistics**, Hoboken, v. 28, n. 4, p. 333-356, 2012.

MORRONE, O. et al. Revisión de las especies de *Paspalum* (Panicoideae: Paniceae), subgénero Anachyris. **Candollea**, Geneve, v. 55, p. 105-135, 2000.

MORRONE, O.; VEGA, A.; ZULOAGA, F. O. Revisión de las especies del género *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae), grupo Dissecta (s. str.). **Candollea**, Geneve, v. 51, n. 1, p. 103-138, 1996.

MOTTA, E. A. M. et al. Agronomic performance of interspecific *Paspalum* hybrids under nitrogen fertilization or mixed with legumes. **Agrosystems, Geosciences & Environment**, Hoboken, v. 3, n. 1, [art.] e20127, [p. 1-13], 2020.

MOTTA, E. A. M. et al. Forage performance of *Paspalum* hybrids from an interspecific cross. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, p. 1025-1031, 2016.

MOTTA, E. A. M. et al. Nutritive value and herbage mass in hybrids of *Paspalum plicatulum* × *Paspalum guenoarum* fertilized with nitrogen or in mixture with temperate legumes. **Grassland Science**, Tochigi, v. 66, n. 4, p. 261-270, 2020.

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

MOTTA, E. et al. Associações entre caracteres forrageiros de espécies do gênero *Paspalum*. **Revista de la Facultad de Agronomía**, Santa Rosa, AR, v. 22, p. 53-55, 2013.

NABINGER, C.; DALL'AGNOL, M. Principais gramíneas nativas do RS: características gerais, distribuição e potencial forrageiro. In: DALL'AGNOL, M.; NABINGER, C.; SANTOS, R. J. (ed.). **Anais do III Simpósio de Forrageiras e Produção Animal**. Porto Alegre: UFRGS, Faculdade de Agronomia, 2008. p. 7-54.

NAKAGAWA, J. Os componentes da produtividade de sementes. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 15-21, 2014.

NASCIMENTO, M. et al. Alteração no método centroide de avaliação da adaptabilidade genotípica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 44, n. 3, p. 263-269, 2009.

NASS, L. L. Utilização de recursos genéticos vegetais no melhoramento. In: NASS, L. L. et al. (ed.). **Recursos genéticos & melhoramento- plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. cap. 2, p. 29-56.

NASS, L. L.; PATERNIANI, E. Pre-breeding: a link between genetic resources and maize breeding. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 3, p. 581-587, 2000.

NELDER, J. A.; WEDDERBURN, R. W. Generalized linear models. **Journal of the Royal Statistical Society: Series A (General)**, London, v. 135, n. 3, p. 370-384, 1972.

NEWMAN, Y.; VENDRAMINI, J.; BLOUNT, A. Bahiagrass (*Paspalum notatum*): overview and management. **University of Florida IFAS Extension**, Gainesville, v. 2010, n. 4, 2010.

NÓBREGA, J. S. et al. Salicylic acid as a saline stress attenuator in the physiological quality of *Erythrina velutina* seeds. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 45, [art.] e4521, [p. 1-8], 2021.

NOGUEIRA, A. P. O. et al. Análise de trilha e correlações entre caracteres em soja cultivada em duas épocas de semeadura. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 6, p. 877-888, 2012.

NOVO, P. E. et al. Cytogenetic relationships, polyploid origin and taxonomic issues in *Paspalum* species: inter-and intraspecific hybrids between a sexual synthetic autotetraploid and five wild apomictic tetraploid species. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 21, n. 2, p. 267-277, 2019.

NOVO, P. E. et al. Genetic transfer from several apomictic tetraploid *Paspalum* species to an elite group of sexual plants. **Crop Science**, Madison, v. 60, n. 4, p. 1997-2007, 2020.

NOVO, P. E. et al. Interspecific hybrids between *Paspalum plicatulum* and *P. oteroii*: a key tool for forage breeding. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 73, n. 4, p. 356-362, 2016.

NOVO, P. E. et al. Hybridization and heterosis in the Plicatula group of *Paspalum*. **Euphytica**, Dordrecht, v. 213, n. 8, p. 1-12, 2017.

NÚÑEZ, O. Investigaciones cario-sistemáticas en las gramíneas argentinas de las tribus "Paniceae". **Revista Facultade de Agronomía**, La Plata, v. 28, p. 229-256, 1952.

NWACHUKWU, I. et al. Germplasm preservation and propagation; the foundation of agricultural development—a review. **IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, Ghaziabad, v. 11, p. 70-73, 2016.

OLEAS, N.; VON WETTBER, E. J.; NEGRÓN-ORTIZ, V. Population genetics of the federally threatened miccosukee gooseberry (*Ribes echinellum*), an endemic North American species. **Conservation Genetics**, Dordrecht, v. 15, n. 4, p. 749-755, 2014.

OLIBONI, R. et al. Genetic divergence among maize hybrids and correlations with heterosis and combining ability. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 34, n. 1, p. 37-44, 2012.

OLIVEIRA, M. S. P.; FERNANDES, G. L. C. Repetibilidade de caracteres do cacho de açaizeiro nas condições de Belém-PA. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, p. 613-616, 2001.

OLIVEIRA, R. C.; VALLS, J. F. M. Novos sinônimos e ocorrências em *Paspalum* L. (Poaceae). **Hoehnea**, São Paulo, v. 35, p. 289-295, 2008.

OLIVEIRA, R. C.; VALLS, J. F. Taxonomia de *Paspalum* L., grupo Linearia (Gramineae-Paniceae) do Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 371-389, 2002.

- OLL, R. H. *et al.* The relationship of heterosis and genetic divergence in maize. **Genetics**, Baltimore, v. 52, n. 1, p. 139-144, 1965.
- ORTIZ, J. P. A. *et al.* Harnessing apomictic reproduction in grasses: what we have learned from *Paspalum*. **Annals of Botany**, Oxford, v. 112, p. 767-787, 2013.
- OTERO, J. R. **Informações sobre algumas plantas forrageiras**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1961. 334 p. (Serviço de informação agrícola, n. 11).
- PACIULLO, D. S. C. *et al.* Composição química e digestibilidade in vitro de lâminas foliares e colmos de gramíneas forrageiras, em função do nível de inserção no perfilho, da idade e da estação de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 30, n. 3, p. 964-974, 2001.
- PAGLIARINI, M. S. *et al.* Cytogenetic characterization of Brazilian *Paspalum* accessions. **Hereditas**, Lund, v. 135, n. 1, p. 27-34, 2001.
- PAIVA, J. R. Divergência genética entre clones primários de seringueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, n. 4, p. 607-615, 1994.
- PATERNIANI, E.; LONNQUIST, J. H. Heterosis in inter-racial crosses of corn (*Zea mays* L.). **Crop Science**, Madison, v. 3, n. 6, p. 504-507, 1963.
- PATERNIANI, M. E. A. G. Z. *et al.* Capacidade combinatória, divergência genética entre linhagens de milho e correlação com heterose. **Bragantia**, Campinas, v. 67, p. 639-648, 2008.
- PATTERSON, H. D.; THOMPSON, R. Recovery of inter-block information when block size are unequal. **Biometrics**, Alexandria, VA, v. 58, p. 545-554, 1971.
- PEARSON, K. Principal components analysis. **The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science**, London, v. 6, n. 2, p. 559, 1901.
- PEETERS, J. P.; GALWEY, N. W. Germplasm collections and breeding needs in Europe. **Economic Botany**, Bronx, v. 42, n. 4, p. 503-521, 1988.
- PEREIRA, E. A. *et al.* Adaptabilidade e estabilidade em genótipos apomíticos do gênero *Paspalum*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, p. 1361-1367, 2015.
- PEREIRA, E. A. *et al.* Agronomic performance and interspecific hybrids selection of the genus *Paspalum*. **Cientifica: Revista de Agronomia**, Dracena, v. 43, n. 4, p. 388-395, 2015.
- PEREIRA, E. A. *et al.* Genetic gain in apomictic species of the genus *Paspalum*. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 64, p. 60-67, 2017.
- PEREIRA, E. A. *et al.* Produção agronômica de uma coleção de acessos de *Paspalum nicorae* Parodi. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 40, n. 3, p. 498-508, 2011.

PEREIRA, E. A. et al. Variabilidade genética de caracteres forrageiros em *Paspalum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 47, p. 1533-1540, 2012.

PEREIRA, E. A. **Melhoramento genético por meio de hibridizações interespécificas no grupo Plicatula - gênero *Paspalum***. 2013. 166 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

PEREIRA, M. G.; PEREIRA, T. N. S. Marcadores moleculares no pré-melhoramento de plantas. In: BOREM, A.; CAIXETA, E. T. (ed.). **Marcadores moleculares**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2006. p. 83-106.

PEREIRA, T. B. et al. Eficiência da seleção de progênies de café F4 pela metodologia de modelos mistos (REML/BLUP). **Bragantia**, Campinas, v. 72, n. 3, p. 230-236, 2013.

PIEPHO, H. P. et al. BLUP for phenotypic selection in plant breeding and variety testing. **Euphytica**, Dordrecht, v. 161, n. 1/2, p. 209-228, 2008.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 12. ed. São Paulo: Nobel, 1987.

PIMENTEL-GOMES, F. **Índice de variação**: um substituto vantajoso do coeficiente de variação. Piracicaba: IPEF, 1991. 4 p. (Circular técnica 178).

PINTO, J. C.; NABINGER, C.; MARASCHIN, G. E. Determinação da época de colheita das sementes de *Paspalum guenoarum* Arech. F. Azulão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 13, n. 1, p. 61-66, 1984.

PIZZARRO, E. A. Potencial forrajero del género *Paspalum*. **Pasturas Tropicales**, Cali, v. 22, n. 1, p. 38-46, 2000.

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

POZZOBON, M. T.; VALLS, J. F. M.; SANTOS, S. D. Contagens cromossômicas em espécies brasileiras de *Paspalum* L. (Gramineae). **Acta Botanica Brasilica**, Brasília, DF, v. 14, p. 151-162, 2000.

PRESTES, P. J. Q.; FREITAS, E. A. G.; BARRETO, I. L. Habito vegetativo e variação estacional de valor nutritivo das principais gramíneas da pastagem nativa do Rio Grande do Sul [Brasil]. **Anuário Técnico do Instituto de Pesquisas Zootécnicas Francisco Osório**, Porto Alegre, v. 3, p. 516-531, 1976.

PROJETO MAPBIOMAS. **Mapeamento Anual de cobertura e uso da terra do Brasil**. [São Paulo: MapBiomass, 2021]. (Coleção, 6). Disponível em: <https://mapbiomas-br/>

site.s3.amazonaws.com/Fact\_Sheet\_PASTAGEM\_13.10.2021\_ok\_ALTA.pdf.  
Acesso em: 9 dez. 2022.

QUARIN, C. L. The nature of apomixis and its origin in Panicoid grasses. **Apomixis Newsletter**, [México], v. 5, p. 8-15, 1992.

QUARÍN, C. L.; POZZOBON, M. T.; VALLS, J. F. M. Cytology and reproductive behavior of diploid, tetraploid and hexaploid germplasm accessions of a wild forage grass: *Paspalum compressifolium*. **Euphytica**, Dordrecht, v. 90, n. 3, p. 345-349, 1996.

QUEIROZ, D. S.; GOMIDE, J. A.; MARIA, J. Avaliação da folha e do colmo de topo e base de perfilhos de três gramíneas forrageiras: 1. Digestibilidade *in vitro* e composição química. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 29, n. 1, p. 53-60, 2000.

RAMALHO, M. A. P. et al. **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. Lavras: UFLA, 2012. 522 p.

RAMALHO, M. A. P. et al. **Genética na agropecuária**. 6. ed. Lavras: UFLA, 2021. 508 p.

RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; OLIVEIRA, A. C. **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. v. 1. 322 p.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; ZIMMERMANN, M. J. **Genética quantitativa em plantas autógamas**: aplicações ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 1993. 271 p.

RAO, N. K. S.; SWAMY, R. D.; CHACO, E. K. Differentiation of plantlets in hybrid embryo callus of pineapple. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 15, p. 235-238, 1981.

RAO, R. C. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: John Wiley, 1952. 390 p.

REGAZZI, A. J.; CRUZ, C. D. **Análise multivariada aplicada**. Viçosa, MG: UFV, 2020. v. 1. 401 p.

REINSEL, G. C. **Elements of multivariate time series analysis**. New York: Springer- Verlag, 1993.

REIS, C. A. D. O. et al. Morphological variation in *Paspalum nicorae* Parodi accessions, a promising forage. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, p. 143-150, 2010.

REIS, C. A. D. 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, MG, v. 8, n. 3, p. 212-218, 2008.

REIS, E. F. et al. Estimativa de variâncias e herdabilidades de algumas características primárias e secundárias da produção de grãos em soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, p. 749-761, 2002.

RESENDE, M. A. V. et al. Divergência genética e índice de seleção via BLUP em acessos de algodoeiro para características tecnológicas da fibra. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 3, p. 334-640, 2014.

RESENDE, M. D. V. **Análise estatística de modelos mistos via REML/BLUP na experimentação em melhoramento de plantas perenes**. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. 101 p. (Documentos 47).

RESENDE, M. D. V. et al. Estimação de componentes de variância e predição de valores genéticos pelo método de máxima verossimilhança restrita (REML) e melhor predição linear não viciada (BLUP) em *Pinus*. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, PR, v. 32/33, p. 23- 42, 1996.

RESENDE, M. D. V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 975 p.

RESENDE, M. D. V. **Genética quantitativa e de populações**. Viçosa, MG: Suprema, 2015. 463 p.

RESENDE, M. D. V. **Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético**. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2007a. 362 p.

RESENDE, M. D. V. **Métodos estatísticos ótimos na análise de experimentos de campo**. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 57 p. (Documentos 100).

RESENDE, M. D. V. **SELEGEN-REML/BLUP**: sistema estatístico e seleção genética computadorizada via modelos lineares mistos. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2007b.

RESENDE, M. D. V.; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, n. 3, p. 182-194, 2007.

RESENDE, M. D. V.; FERNANDES, J. S. C. Procedimento BLUP individual para delineamentos experimentais aplicados ao melhoramento florestal. **Revista de Matemática e Estatística**, São Paulo, v. 17, p. 89-107, 1999.

RESENDE, M. D. V.; HIGA, A. R. Maximização da eficiência da seleção em testes de progêniens de *Eucalyptus* através da utilização de todos os efeitos do modelo matemático. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, PR, v. 28/29, p. 37-55, 1994.

RESENDE, M. D. V.; THOMPSON, R. Factor analytic multiplicative mixed models in the analysis of multiple experiments. **Revista de Matemática e Estatística**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 31-52, 2004.

- RINALDI, D. A. et al. Correlação entre heterose e divergência genética estimadas por cruzamentos dialélicos e marcadores moleculares RAPD em populações de milho pipoca. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 2, p. 183–192, 2007.
- RIOS, E. F. et al. Managing forage and turf-type bahiagrass for seed production. **Crop Science**, Madison, v. 60, n. 3, p. 1569-1579, 2020.
- RIOS, S. D. A. et al. Análise de trilha para carotenoides em milho. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 59, n. 3, p. 368-373, 2012.
- ROCHA, M. M. et al. A Estimativas de parâmetros genéticos em genótipos de feijão-caupi de tegumento branco. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 8, n. 1, p. 135-141, 2003.
- ROCHA, R. B. et al. Avaliação do método centroide para estudo de adaptabilidade ao ambiente de clones de *Eucalyptus grandis*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 15, p. 255-266, 2005.
- RODRIGUES, E. V. et al. Repeatability estimates and minimum number of evaluations for selection of elephant-grass genotypes for herbage production. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 36, n. 1, p. 30-41, 2020.
- ROSA, J. L. **Nitrogênio e métodos de semeadura no rendimento de sementes de *Paspalum guenoarum* Arech, no segundo ano da cultura**. 1984. 173 f. Dissertação (Mestrado Agronomia – Fitotecnia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1984.
- ROSO, V. M.; FRIES, L. A. Componentes principais em bovinos da raça Polled Hereford à desmama e sobreano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 24, n. 5, p. 728-735, 1995.
- ROSSO, V. C. et al. New entities of *Paspalum* and a Synopsis of the dilatata group. **Systematic Botany**, Ann Arbor, v. 47, n. 1, p. 125-139, 2022.
- RUA, G. H. et al. A phylogenetic analysis of the genus *Paspalum* (Poaceae) based on cpDNA and morphology. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 288, p. 227-243, 2010.
- RUA, G. H.; ALISCIOMI, S. S. A morphology-based cladistic analysis of *Paspalum* sect. Pectinata (Poaceae). **Systematic Botany**, Ann Arbor, v. 27, n. 3, p. 489-501, 2002.
- RUTLEDGE, J. J. A scaling which removes bias of Aba wardenas's estimator of repeatability. **Journal of Genetics**, London, v. 61, p. 247-250, 1974.
- SAHA, S. R. et al. Genetic variability, heritability, correlation and path analyses of yield components in traditional rice (*Oryza sativa* L.) landraces. **Journal of the Bangladesh Agricultural University**, Bangladesh, v. 17, n. 1, p. 26-32, 2019.

SALLA, V. P. et al. Análise de trilha em caracteres de frutos de jabuticabeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 50, n. 3, p. 218-223, 2015.

SÁNCHEZ-KEN, J. G. Two new species of *Paspalum* (Paniceae: Panicoideae: Poaceae), a preliminary checklist of the genus in Mexico, and the identity of *P. crinitum*. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, Ciudad de Mexico, v. 81, n. 3, p. 629-647, 2010.

SANT'ANNA, C. M.; MALINOVSKI, J. R. Uso da análise multivariada no estudo de fatores humanos em operadores de motosserra. **Cerne**, Lavras, v. 8, n. 2, p. 98-104, 2002.

SANTOS, C. A. F. et al. Coeficiente de trilha no estudo dos componentes primários e secundários na produção de grãos do guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 41, n. 235, p. 299-305, 1994.

SARAIVA, K. et al. Crude protein content in hybrids of *Paspalum* evaluated in the Pampa Biome of Southern Brazil. **Agronomía Colombiana**, Bogotá, v. 37, n. 2, p. 189-192, 2019.

SARAIVA, K. M. et al. Hybrids of *Paspalum plicatulum* × *P. guenoiarum*: selection for forage yield and cold tolerance in a subtropical environment. **Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales**, Cali, v. 9, n. 1, p. 138-143, 2021.

SARAIVA, K. M. et al. Variabilidade genética de caracteres forrageiros em acessos do gênero *Paspalum* em diferentes ambientes. **Revista de la Facultad de Agronomía**, Santa Rosa, AR, v. 22, p. 163-166, 2013.

SARTOR, M. E. et al. Ploidy levels and reproductive behaviour in natural populations of five *Paspalum* species. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 293, n. 1, p. 31-41, 2011.

SARTOR, M. E.; QUARIN, C. L.; ESPINOZA, F. Mode of reproduction of colchicine-induced *Paspalum plicatulum* tetraploids. **Crop Science**, Madison, v. 49, n. 4, p. 1270-1276, 2009.

SAURA, F. Cariología de gramíneas en Argentina. **Revista Faculdade de Agronomía e Veterinaria**, Buenos Aires, v. 12, n. 1, p. 51-67, 1948.

SAWASATO, J. T. et al. Utilização de microssatélites e RAPD na caracterização molecular de acessos de *Paspalum urvillei* Steudel. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, p. 1366-1374, 2008.

SCAPIM, C. A. et al. Correlations between the stability and adaptability statistics of popcorn cultivars. **Euphytica**, Dordrecht, v. 174, n. 2, p. 209-218, 2010.

SCATAGLINI, M. A. et al. Phylogeny of new world *Paspalum* (Poaceae, Panicoideae, Paspaleae) based on plastid and nuclear markers. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 300, p. 1051-1070, 2014.

SCHEFFER-BASSO, S. M.; TRENTINI, V.; BAREA, K. Manejo de *Paspalum dilatatum* Poir. biótipo Virasoro. 2. Produção de sementes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, n. 4, p. 1022-1028, 2007.

SEBER, G. A. F. **Multivariate observations**. New York: John Wiley, 1984.

SHETH, S.; ANGERT, A. The evolution of environmental tolerance and range size: a comparison of geographically restricted and widespread Mimulus. **Evolution**, Lancaster, v. 68, n. 10, p. 2917-2931, 2014.

SIEGMUND, K. D.; LAIRD, P. W.; LAIRD-OFFRINGA, I. A. A comparison of cluster analysis methods using DNA methylation data. **Bioinformatics**, Oxford, v. 20, n. 12, p. 1896-1904, 2004.

SILVA JÚNIOR, A. C. et al. Prediction of the importance of auxiliary traits using computational intelligence and machine learning: A simulation study. **Plos One**, San Francisco, v. 16, n. 11, [art.] e0257213, [p. 1-12], 2021.

SILVA, A. R. **Métodos de análise multivariada em R**. Piracicaba: FEALQ, 2016. 167 p.

SILVA, C. A. et al. Correlações fenotípicas e análise de trilha em caracteres morfoagronômicos de mamoeiro. **Revista Agro@mbiente On-line**, Boa Vista, v. 10, n. 3, p. 217-227, 2016.

SILVA, F. C. S. et al. **Análise de trilha**. In: MATSUO, E.; CRUZ, C. D.; SEDIYAMA, T. (org.). **Aplicações de técnicas biométricas no melhoramento genético da soja**. Londrina: Editora Mecenas, 2020. v. 1, p. 119-126.

SILVA, G. O. et al. Correlações entre caracteres fenotípicos e análise de trilha para aparência e rendimento de batata. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 56, n. 1, p. 63-68, 2009.

SILVA, I. C. et al. Aplicação de Análises multivariadas para determinação da casta de abelhas *Apis mellifera* L. (Africanizadas), obtidas em laboratório. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 34, n. 2, p. 635-640, 2005a.

SILVA, S. A. et al. Análise de trilha para os componentes de rendimento de grãos em trigo. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 2, p. 191-196, 2005b.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, New Delhi, v. 41, n. 1, p. 237-245, 1981.

SINGH, R. K; CHANDHARY, B. D. **Biometrical methods in quantitative genetic analysis**. Ludhiana: Kalyani, 1979. 304 p.

SOLLENBERGER, L. E. et al. Grassland management affects delivery of regulating and supporting ecosystem services. **Crop Science**, Madison, v. 59, n. 2, p. 441-459, 2019.

- SORENG, R. J. et al. A worldwide classification of the Poaceae (Gramineae). **Journal of Systematics and Evolution**, Hoboken, v. 2, p. 117–137, 2015.
- SOUZA SOBRINHO, F. et al. Estimativas de repetibilidade para produção de matéria seca em alfafa. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 531-537, 2004.
- SOUZA SOBRINHO, F. et al. Repetibilidade de características agronômicas e número de cortes necessários para seleção de *Urochloa ruziziensis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 45, n. 6, p. 579-584, 2010.
- SOUZA, F. H. B. Produção de sementes forrageiras para pastagens tropicais e subtropicais. In: REIS, R. A.; BERNARDES, T. F.; SIQUEIRA, G. R. **Forragicultura**. Jaboticabal: UFV, 2013. p. 367-380.
- SOUZA, F. H. D. **Produção de gramíneas forrageiras tropicais**. São Carlos: EMBRAPA, 2001. 43 p.
- SOUZA, J. **Analise em componentes principais e suas aplicações**: métodos estatísticos nas ciências psicossociais. Brasília, DF: Thesaurus, 1988. v. 2.
- SPINELLI, V. M. et al. Estimates of genetic parameters with selection within and between half-sib families of *Jatropha curcas* L. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 69, p. 355-361, 2015.
- STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics**: a biometrical approach. New York: McGraw-Hill, 1980. 633 p.
- STEINER, M. G. et al. Characterization and genetic diversity in *Paspalum notatum* Flügge accessions: morphological and geographical distance. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 51, [art.] e20220015, [p. 1-13], 2022.
- STEINER, M. G. et al. Forage potential of native ecotypes of *Paspalum notatum* and *P. guenoiarum*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 89, p. 1753-1760, 2017.
- STORCK, L. et al. **Experimentação vegetal**. 3. ed. Santa Maria: UFSM, 2018. 198 p.
- STRAPASSON, E.; VENCOVSKY, 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, MG, v. 29, n. 2, p. 373-381, 2000.
- STRECK, E. A. et al. Variabilidade fenotípica de genótipos de arroz irrigado via análise multivariada. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 48, p. 101-109, 2017.
- STURION, J. A.; RESENDE, M. D. V. Avaliação genética e análise de deviance em um teste desbalanceado de procedência e progénie de *Ilex paraguariensis*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, PR, v. 30, n. 62, p. 157-160, 2010.

SUDRÉ, C. P. et al. Genetic resources of vegetable crops: a survey in the Brazilian germplasm collections pictured through papers published in the journals of the Brazilian Society for Horticultural Science. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, n. 4, p. 496-503, 2007.

TAI, G. C. C.; YOUNG, D. A. Early generation selection for important agronomic characteristics in a potato breeding population. **American Potato Journal**, Takoma Park, v. 61, p. 419-434, 1984.

TISCHLER, C. R.; VOIGT, P. W.; BURSON, B. L. Evaluation of *Paspalum* germplasm for variation in leaf wax and heat tolerance. **Euphytica**, Dordrecht, v. 50, n. 1, p. 73-79, 1990.

TOEBE, M. et al. Plot size and replications number for triticale experiments. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 50, [art.] e20200222, [p. 1-5], 2020.

TORRES, F. E. et al. Minimum number of measurements for accurate evaluation of qualitative traits in *Urochloa brizantha*. **Journal of Agronomy**, Faisalabad, v. 14, n. 3, p. 180-184, 2015.

TURNER, H. N.; YOUNG, S. S. Y. **Quantitative genetics in sheep breeding**. New York: Cornell University, 1969. 332 p.

URBANI, M. H. et al. Cytogeography and reproduction of the *Paspalum simplex* polyploid complex. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 236, p. 99-105, 2002.

VALLS, J. F. M. Caracterização morfológica, reprodutiva e bioquímica de germoplasma vegetal. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENETICOS, 1., 1988, Jaboticabal. **Anais** [...]. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 1988. p. 106-128.

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. Melhoramento de plantas forrageiras nativas, com ênfase na situação do gênero *Paspalum*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 3., 2005, Gramado. **Anais** [...]. Passo Fundo: Embrapa Trigo; Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2005.

VALLS, J. F. M. O potencial de plantas forrageiras tropicais americanas. In: SIMPOSIO BRASILEIRO DE FORRAGEIRAS E PASTAGENS, 1994, Campinas, SP. **Anais** [...]. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 1994. p. 11-24.

VALLS, J. F. M.; POZZOBON, M. T. Variação apresentada pelos principais grupos taxonômicos de *Paspalum* com interesse forrageiro no Brasil. In: ENCONTRO INTERNACIONAL SOBRE MELHORAMENTO DE PASPALUM, 1987, Nova Odessa. **Anais** [...]. Nova Odessa: SAPF/IZ, 1987. p. 15-21.

- VASCONCELOS, E. S. D. et al. Método alternativo para análise de agrupamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 42, n. 10, p. 1421-1428, 2007.
- VELOSO, R. C. et al. Divergência genética entre genótipos de frangos tipo caipira. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 67, p. 1353-1360, 2015.
- VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E. (coord.). **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. 1, p. 122-201.
- VENCOVSKY, R. **Princípios de genética quantitativa**. Piracicaba: Esalq, 1973. 97 p
- VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496 p.
- VIANA, J. M. S. et al. Best linear unbiased prediction and family selection in crop species. **Crop Science**, Madison, v. 51, n. 6, p. 2371-2381, 2011.
- VICINI, L. et al. **Técnicas multivariadas exploratórias: teorias e aplicações no software statistica**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2018. 240 p.
- VIEIRA, E. A. et al. Análise de trilha entre os componentes primários e secundários do rendimento de grãos em trigo. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, p. 169-174, 2007.
- WAGNER JÚNIOR, A. et al. Divergência genética entre progêniens de pessegueiro em Zaragoza, Espanha. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 1, p. 303-310, 2011.
- WAWU, F. U. K.; SUDITA, I. D. N.; REJEKI, I. Physical quality of some types of grass on mixed planting with *Arachis pintoi* and organic fertilizing. In: **Journal of Physics: Conference Series**, Malang, v. 1869, [art.] 012049, [p. 1-6], 2021.
- WEILER, R. L. et al. Chromosome doubling in *Paspalum notatum* var. saure (cultivar Pensacola). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 15, p. 106-111, 2015.
- WEILER, R. L. et al. Determination of the mode of reproduction of bahiagrass hybrids using cytoembryological analysis and molecular markers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 46, p. 185-191, 2017.
- WEILER, R. L. et al. Intraspecific tetraploid hybrids of *Paspalum notatum*: agronomic evaluation of segregating progeny. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 75, p. 36-42, 2018.
- WILLIAMS, J. T. Plant genetic resources: some new directions. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 45, p. 61-91, 1991.

WRIGHT, S. Correlation and causation. **Journal of Agricultural Research**, Lahore, v. 20, p. 557-580, 1921.

WRIGHT, S. Theory of path coefficients. **Genetics**, Baltimore, v. 8, p. 239-285, 1923.

YU, H. et al. Genomic bayesian confirmatory factor analysis and bayesian network to characterize a wide spectrum of rice phenotypes. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, Bethesda, v. 9, n. 6, p. 1975-1986, 2019.

ZULOAGA, F. O.; MORRONE, O. Revisión de las especies de *Paspalum* para América del Sur Austral (Argentina, Bolivia, sur del Brasil, Chile, Paraguay, y Uruguay). **Economic Botany**, Bronx, v. 59, n. 3, p. 304-304, 2005.

ZULOAGA, F. O.; PENSIERO, J.; MORRONE, O. Systematics of *Paspalum* group Notata (Poaceae-Panicoideae-Paniceae). **Systematic Botany Monographs**, Ann Arbor, v. 71, p. 1-75, 2004.

## 11. VITA

Diógenes Cecchin Silveira é filho de Jorge Valdomiro Silveira e Maria Eloá Cecchin. Nasceu em 07 de novembro de 1992 em Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil. Estudou na Escola Estadual de Educação Básica Margarida Pardelhas, na mesma cidade, onde concluiu o Ensino Fundamental e Médio em 2010. No mesmo ano também concluiu o curso Técnico em Informática pela Escola Técnica Érico Veríssimo. Em 2012, ingressou no curso de Agronomia na Universidade de Cruz Alta, onde atuou como bolsista de iniciação científica sob a orientação do Prof. Luiz Pedro Bonetti. No segundo semestre de 2016, realizou um estágio curricular na Cooperativa

Central Gaúcha Ltda (CCGLTec) sob orientação do Prof. Mario Antônio Bianchi. Obtendo o título de Engenheiro Agrônomo em fevereiro de 2017. Em julho de 2017, iniciou especialização em Ciência e Tecnologia de Sementes na Universidade Federal de Pelotas (UFPel) sob a orientação do Prof. Carlos Eduardo da Silva Pedroso, obtendo o título de especialista em dezembro de 2018. Em março de 2018, sob orientação da Prof. Nádia Canali Lângaro e coorientação da Prof. Simone Meredith Scheffer Basso, começou seu treinamento de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAgro) na Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF), com foco no melhoramento genético de aveia-branca. Obteve o título de mestre em Agronomia - Produção e Proteção de Plantas em fevereiro de 2020. Em abril de 2020, sob a orientação do Prof. Miguel Dall'Agnol, iniciou seu treinamento de doutorado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), com foco na Caracterização de Germoplasma e Melhoramento de Plantas Forrageiras. Foi submetido à banca de defesa de tese em novembro de 2023.

## APÊNDICES

Tabela 3. Croqui experimental para o experimento I (produção de forragem) e experimento II (produção de sementes) em oitenta e quatro ecótipos de *P. lepton*.

| Forragem   |   |   |   | Sementes   |   |   |   |
|--|---|---|---|--|---|---|---|
| Bloco 1  | Bloco 2   | Bloco 3   | Bloco 4   | Bloco 1  | Bloco 2   | Bloco 3   | Bloco 4   |
| L7. L7.<br>20 15<br>L6. L6.<br>1 5<br>L6. L2.<br>8 1 | L1. L5.<br>1 10<br>L1. L1.<br>9 6<br>L1. L1.<br>19 21 | L4. L1.<br>1 9<br>L6. L1.<br>5 10<br>L6. L4.<br>22 21 | L1. L1.<br>1 21<br>L1. L1.<br>9 15<br>L1. L5.<br>19 5 | L7. L7.<br>20 15<br>L6. L6.<br>1 5<br>L6. L2.<br>8 1 | L1. L5.<br>1 10<br>L1. L1.<br>9 6<br>L1. L1.<br>19 21 | L4. L1.<br>1 9<br>L6. L1.<br>5 10<br>L6. L4.<br>22 21 | L1. L1.<br>1 21<br>L1. L1.<br>9 15<br>L1. L5.<br>19 5 |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| L6. | L1. | L1. | L7. | L6. | L4. | L4. | L3. | L6. | L1. | L1. | L7. | L6. | L4. | L4. | L3. |
| 22  | 14  | 15  | 20  | 18  | 15  | 6   | 19  | 22  | 14  | 15  | 20  | 18  | 15  | 6   | 19  |
| L6. | L1. | L4. | L7. | L7. | L4. | L4. | L5. | L6. | L1. | L4. | L7. | L7. | L4. | L4. | L5. |
| 12  | 12  | 6   | 15  | 2   | 14  | 1   | 11  | 12  | 12  | 6   | 15  | 2   | 14  | 1   | 11  |
| L6. | L2. | L4. | L6. | L7. | L4. | L4. | L1. | L6. | L2. | L4. | L6. | L7. | L4. | L4. | L1. |
| 18  | 1   | 1   | 19  | 15  | 5   | 5   | 12  | 18  | 1   | 1   | 19  | 15  | 5   | 5   | 12  |
| L6. | L3. | L4. | L6. | L6. | L1. | L4. | L6. | L6. | L3. | L4. | L6. | L6. | L1. | L4. | L6. |
| 19  | 17  | 5   | 1   | 8   | 19  | 14  | 12  | 19  | 17  | 5   | 1   | 8   | 19  | 14  | 12  |
| L1. | L3. | L4. | L6. | L1. | L4. | L4. | L7. | L1. | L3. | L4. | L6. | L1. | L4. | L4. | L7. |
| 22  | 16  | 14  | 8   | 15  | 6   | 15  | 20  | 22  | 16  | 14  | 8   | 15  | 6   | 15  | 20  |
| L1. | L3. | L4. | L6. | L6. | L8. | L4. | L6. | L1. | L3. | L4. | L6. | L6. | L8. | L4. | L6. |
| 18  | 7   | 15  | 18  | 12  | 4   | 21  | 8   | 18  | 7   | 15  | 18  | 12  | 4   | 21  | 8   |
| L1. | L3. | L4. | L6. | L6. | L8. | L3. | L6. | L1. | L3. | L4. | L6. | L6. | L8. | L3. | L6. |
| 7   | 12  | 21  | 22  | 19  | 3   | 15  | 18  | 7   | 12  | 21  | 22  | 19  | 3   | 15  | 18  |
| L1. | L3. | L3. | L6. | L6. | L3. | L8. | L6. | L1. | L3. | L3. | L6. | L6. | L3. | L8. | L6. |
| 6   | 4   | 15  | 5   | 1   | 19  | 3   | 22  | 6   | 4   | 15  | 5   | 1   | 19  | 3   | 22  |
| L1. | L3. | L3. | L6. | L1. | L3. | L8. | L6. | L1. | L3. | L3. | L6. | L1. | L3. | L8. | L6. |
| 17  | 2   | 19  | 12  | 22  | 15  | 4   | 5   | 17  | 2   | 19  | 12  | 22  | 15  | 4   | 5   |
| L1. | L3. | L8. | L1. | L1. | L5. | L5. | L7. | L1. | L3. | L8. | L1. | L1. | L5. | L5. | L7. |
| 5   | 5   | 3   | 3   | 18  | 18  | 15  | 15  | 5   | 5   | 3   | 3   | 18  | 18  | 15  | 15  |
| L2. | L4. | L8. | L1. | L1. | L5. | L5. | L6. | L2. | L4. | L8. | L1. | L1. | L5. | L5. | L6. |
| 2   | 1   | 4   | 7   | 7   | 20  | 21  | 19  | 2   | 1   | 4   | 7   | 7   | 20  | 21  | 19  |
| L1. | L1. | L5. | L1. | L1. | L5. | L5. | L6. | L1. | L1. | L5. | L1. | L1. | L5. | L5. | L6. |
| 21  | 15  | 15  | 18  | 6   | 14  | 3   | 1   | 21  | 15  | 15  | 18  | 6   | 14  | 3   | 1   |
| L2. | L1. | L5. | L1. | L1. | L5. | L5. | L1. | L2. | L1. | L5. | L1. | L1. | L5. | L5. | L1. |
| 6   | 19  | 3   | 22  | 13  | 6   | 16  | 13  | 6   | 19  | 3   | 22  | 13  | 6   | 16  | 13  |
| L2. | L1. | L5. | L2. | L1. | L5. | L5. | L1. | L2. | L1. | L5. | L2. | L1. | L5. | L5. | L1. |
| 7   | 9   | 16  | 2   | 16  | 16  | 6   | 6   | 7   | 9   | 16  | 2   | 16  | 16  | 6   | 6   |
| L2. | L1. | L5. | L2. | L1. | L5. | L5. | L1. | L2. | L1. | L5. | L2. | L1. | L5. | L5. | L1. |
| 11  | 1   | 6   | 1   | 17  | 21  | 14  | 7   | 11  | 1   | 6   | 1   | 17  | 21  | 14  | 7   |
| L2. | L4. | L5. | L1. | L1. | L5. | L5. | L1. | L2. | L4. | L5. | L1. | L1. | L5. | L5. | L1. |
| 17  | 21  | 14  | 14  | 5   | 15  | 2   | 18  | 17  | 21  | 14  | 14  | 5   | 15  | 2   | 18  |
| L2. | L4. | L5. | L1. | L1. | L3. | L5. | L1. | L2. | L4. | L5. | L1. | L1. | L3. | L5. | L1. |
| 13  | 15  | 2   | 12  | 12  | 9   | 18  | 22  | 13  | 15  | 2   | 12  | 12  | 9   | 18  | 22  |
| L2. | L4. | L5. | L1. | L1. | L3. | L3. | L2. | L2. | L4. | L5. | L1. | L1. | L3. | L3. | L2. |
| 16  | 14  | 18  | 5   | 14  | 16  | 5   | 2   | 16  | 14  | 18  | 5   | 14  | 16  | 5   | 2   |
| L2. | L4. | L3. | L1. | L1. | L3. | L3. | L2. | L2. | L4. | L3. | L1. | L1. | L3. | L3. | L2. |
| 22  | 5   | 5   | 17  | 21  | 7   | 4   | 1   | 22  | 5   | 5   | 17  | 21  | 7   | 4   | 1   |
| L5. | L4. | L3. | L1. | L2. | L3. | L3. | L1. | L5. | L4. | L3. | L1. | L2. | L3. | L3. | L1. |
| 5   | 6   | 2   | 16  | 1   | 12  | 2   | 14  | 5   | 6   | 2   | 16  | 1   | 12  | 2   | 14  |
| L5. | L8. | L3. | L2. | L2. | L3. | L3. | L1. | L5. | L8. | L3. | L2. | L2. | L3. | L3. | L1. |
| 2   | 4   | 4   | 13  | 2   | 4   | 12  | 5   | 2   | 4   | 4   | 13  | 2   | 4   | 12  | 5   |
| L2. | L8. | L3. | L2. | L2. | L3. | L3. | L1. | L2. | L8. | L3. | L2. | L2. | L3. | L3. | L1. |
| 18  | 3   | 12  | 17  | 6   | 22  | 7   | 17  | 18  | 3   | 12  | 17  | 6   | 22  | 7   | 17  |
| L4. | L3. | L3. | L2. | L2. | L3. | L3. | L1. | L4. | L3. | L3. | L2. | L2. | L3. | L3. | L1. |
| 13  | 19  | 7   | 11  | 7   | 5   | 16  | 16  | 13  | 19  | 7   | 11  | 7   | 5   | 16  | 16  |
| L5. | L3. | L3. | L2. | L2. | L3. | L3. | L2. | L5. | L3. | L3. | L2. | L2. | L3. | L3. | L2. |
| 22  | 15  | 16  | 10  | 1   | 17  | 9   | 13  | 22  | 15  | 16  | 10  | 1   | 17  | 9   | 13  |
| L5. | L5. | L3. | L2. | L2. | L3. | L4. | L2. | L5. | L5. | L3. | L2. | L2. | L3. | L4. | L2. |
| 11  | 18  | 9   | 7   | 11  | 22  | 8   | 17  | 11  | 18  | 9   | 7   | 11  | 22  | 8   | 17  |
| L5. | L5. | L4. | L2. | L2. | L3. | L4. | L2. | L5. | L5. | L4. | L2. | L2. | L3. | L4. | L2. |
| 10  | 2   | 8   | 6   | 17  | 18  | 9   | 11  | 10  | 2   | 8   | 6   | 17  | 18  | 9   | 11  |
| L5. | L5. | L4. | L5. | L2. | L3. | L3. | L2. | L5. | L5. | L4. | L5. | L2. | L3. | L3. | L2. |
| 19  | 14  | 9   | 2   | 13  | 6   | 8   | 10  | 19  | 14  | 9   | 2   | 13  | 6   | 8   | 10  |
| L4. | L5. | L3. | L5. | L2. | L3. | L3. | L2. | L4. | L5. | L3. | L5. | L2. | L3. | L3. | L2. |
| 17  | 6   | 8   | 5   | 16  | 8   | 6   | 7   | 17  | 6   | 8   | 5   | 16  | 8   | 6   | 7   |
| L4. | L5. | L3. | L2. | L2. | L4. | L3. | L2. | L4. | L5. | L3. | L2. | L2. | L4. | L3. | L2. |
| 12  | 16  | 6   | 22  | 18  | 9   | 18  | 6   | 12  | 16  | 6   | 22  | 18  | 9   | 18  | 6   |
| L4. | L5. | L3. | L2. | L2. | L4. | L3. | L5. | L4. | L5. | L3. | L2. | L2. | L4. | L3. | L5. |
| 19  | 3   | 18  | 18  | 22  | 8   | 22  | 2   | 19  | 3   | 18  | 18  | 22  | 8   | 22  | 2   |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| L4. | L5. | L3. | L2. | L5. | L5. | L3. | L2. | L4. | L5. | L3. | L2. | L5. | L5. | L3. | L2. |
| 7   | 21  | 22  | 16  | 5   | 12  | 17  | 22  | 7   | 21  | 22  | 16  | 5   | 12  | 17  | 22  |
| L5. | L5. | L3. | L5. | L5. | L4. | L5. | L2. | L5. | L5. | L3. | L5. | L5. | L4. | L5. | L2. |
| 9   | 15  | 17  | 19  | 2   | 20  | 9   | 18  | 9   | 15  | 17  | 19  | 2   | 20  | 9   | 18  |
| L5. | L3. | L5. | L5. | L4. | L3. | L5. | L2. | L5. | L3. | L5. | L5. | L4. | L3. | L5. | L2. |
| 1   | 9   | 9   | 10  | 13  | 3   | 1   | 2   | 1   | 9   | 9   | 10  | 13  | 3   | 1   | 2   |
| L3. | L3. | L5. | L5. | L5. | L3. | L3. | L5. | L3. | L3. | L5. | L5. | L5. | L3. | L3. | L5. |
| 10  | 6   | 1   | 11  | 22  | 10  | 1   | 19  | 10  | 6   | 1   | 11  | 22  | 10  | 1   | 19  |
| L3. | L3. | L3. | L5. | L5. | L5. | L3. | L5. | L3. | L3. | L3. | L5. | L5. | L5. | L3. | L5. |
| 3   | 22  | 1   | 22  | 3   | 1   | 3   | 10  | 3   | 22  | 1   | 22  | 3   | 1   | 3   | 10  |
| L4. | L3. | L3. | L4. | L5. | L5. | L4. | L5. | L4. | L3. | L3. | L4. | L5. | L5. | L4. | L5. |
| 20  | 18  | 3   | 13  | 11  | 9   | 2   | 22  | 20  | 18  | 3   | 13  | 11  | 9   | 2   | 22  |
| L5. | L3. | L4. | L4. | L5. | L4. | L5. | L4. | L5. | L3. | L4. | L4. | L5. | L4. | L5. | L4. |
| 12  | 8   | 2   | 7   | 1   | 7   | 12  | 13  | 12  | 8   | 2   | 7   | 1   | 7   | 12  | 13  |
| L4. | L4. | L5. | L4. | L5. | L4. | L4. | L4. | L4. | L4. | L5. | L4. | L5. | L4. | L4. | L4. |
| 8   | 9   | 12  | 19  | 19  | 19  | 17  | 7   | 8   | 9   | 12  | 19  | 19  | 19  | 17  | 7   |
| L4. |
| 9   | 8   | 17  | 12  | 17  | 12  | 12  | 19  | 9   | 8   | 17  | 12  | 17  | 12  | 12  | 19  |